Aus dem Institut für Arbeits- und Sozialmedizin
der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. F. W. Schmahl

ZUR TOXIKOLOGIE VON ALKANEN IM MASCHINENÖL

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

VOLKER RIETHMÜLLER
aus Leonberg

1984

Aus dem Institut für Arbeits- und Sozialmedizin
der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. F. W. Schmahl

ZUR TOXIKOLOGIE VON ALKANEN IM MASCHINENÖL

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

VOLKER RIETHMÜLLER
aus Leonberg

1984

Dekan: Prof.Dr.med. G.Fichtner
1. Berichterstatter: Prof.Dr.med. H.Weichardt
2. Berichterstatter: Priv.-Doz.Dr.rer.nat. F.Schweinsberg
3. Berichterstatter: Prof.Dr.med. H.J.Mallach

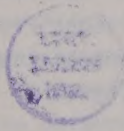
Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
1. Verwendung und Eigenschaften des Erdöls	2
1.1. Erdölverbrauch heute	2
1.2. Zusammensetzung des Erdöls	2
1.3. Verwendung des Erdöls in der Industrie und seine Schadwirkungen	3
2. Toxikologie von Erdölbestandteilen	4
2.1. Giftwirkung der einzelnen Fraktionen	4
2.2. Fallbeschreibungen und Untersuchungen über die Schadwirkungen von Erdöl	6
2.3. Zusammensetzung des Kühl- und Schmieröls und toxikologische Beurteilung seiner Inhaltsstoffe	9
2.4. MAK-Werte und Ölnebel- Konzentrationsbestimmungen am Arbeitsplatz	13
2.5. Neuere Berichte über physiologische Wirkungen der n-Alkane	14
3. Experimentelle Untersuchungen zum Dodekan-Stoffwechsel bei Wistar-Ratten	20
3.1. Begründung und Ziel der Arbeit	20
3.2. Versuchsanordnung	22
3.3. Durchführung der Versuche und Messungen	27
3.3.1. Dodekan und seine Stoffwechselprodukte in der Ausatmungsluft	27
3.3.2. Dodekan und seine Stoffwechselprodukte in Kot und Urin	29
4. Ergebnisse	34
4.1. Ausscheidung in der Ausatmungsluft	34
4.2. Ausscheidung in Kot und Urin	40
4.3. Verbleib des gespritzten Dodekan und Wiederfinderate	56
5. Auswertung der Versuchsergebnisse	60
5.1. Überwachung der Schadstoffaufnahme durch Messung der Schadstoffkonzentration in der Ausatmungsluft	60
5.2. Ergebnisse der Untersuchungen zum Dodekan-Stoffwechsel	62
6. Diskussion der Versuchsergebnisse	64
7. Zusammenfassung	70

Einleitung

Im Maschinenöl sind zahlreiche Stoffe enthalten, die sich nachteilig auf die Gesundheit des Menschen auswirken können. Bisher liegen Untersuchungen vor allem über aromatische Kohlenwasserstoffe und niedrigsiedende Aliphaten vor. Über Stoffwechselkinetik und Schadwirkungen der Alkane mit Kettenlängen zwischen neun und sechzehn Kohlenstoffatomen findet man dagegen in der Literatur nur vereinzelte Angaben. Mit dieser Arbeit sollte versucht werden, näheres über den Stoffwechsel eines dieser Paraffine bei Ratten zu erfahren und so Aussagen über das Ausmaß seiner eventuellen Schadwirkung zu begründen.

Es fehlt aber auch die Möglichkeit, die tatsächliche Aufnahme anderer Schadstoffe, die an den meisten Arbeitsplätzen durch Inhalation von Ölaerosolen geschieht, zu messen. Am Dodekan sollte untersucht werden, ob es eine Möglichkeit gibt, von der Messung der Dodekanabatmung nach der Exposition auf seine Gesamtaufnahme zurückzurechnen und ob deshalb weitergehende Versuche zur genaueren Charakterisierung dieses Zusammenhangs sinnvoll sein würden.Wenn man dann den Dodekananteil im jeweiligen Maschinenöl kennt, könnte man daraus auf die Aufnahme anderer Verbindungen schließen, sofern auch deren Resorption- und Exkretionsverhalten bekannt sind.



1. Verwendung und Eigenschaften des Erdöls

1.1. Erdölverbrauch heute

Die Bedeutung des Erdöls für unser heutiges Leben macht der Anstieg des weltweiten Erdölverbrauchs von 540 Mio Tonnen im Jahr 1950 über 2270 Mio Tonnen 1970 auf 2690 Mio Tonnen 1975, d.h. auf das Fünffache innerhalb von 25 Jahren, deutlich. Die Bundesrepublik Deutschland war daran im Jahr 1960 mit 33,6 Mio Tonnen, im Jahr 1975 mit 128,7 Mio Tonnen oder 4,8 % beteiligt. Der Anteil des Erdöls am Weltenenergieverbrauch stieg von 27 % 1950 auf 42 % 1970 (31).
Am Gesamtenergieverbrauch in der Bundesrepublik von 348 Mio Tonnen Steinkohleeinheiten (SKE) 1975 war das Erdöl mit 180 Mio Tonnen SKE, d.h. mit 52 % beteiligt (7). Vom gesamten Mineralöl wurden dabei 65,3 % als leichtes oder schweres Heizöl, 32,2 % als Vergaser- oder Dieselkraftstoff und 2,5 % als sonstige Mineralölprodukte verwendet (41).

1.2. Zusammensetzung des Erdöls

Die Zusammensetzung des Erdöls ist je nach Lagerstätte sehr verschiede; es besteht hauptsächlich aus gesättigten Kohlenwasserstoffen mit hohem Molekulargewicht. Normal-, Iso- und Ringparaffine sowie aromatische Kohlenwasserstoffe kommen in verschiedenen Mengen, Olefine nur in Spuren vor. Erdöl als solches kann praktisch nirgends verwendet werden, man muß es für die Anwendung in verschiedene, nach den Siedepunkten eingeteilte Gruppen (Fraktionen) zerlegen, was im allgemeinen durch fraktionierte Destillation geschieht.

Da der Bedarf an hochsiedenden Fraktionen kleiner ist als der an mittel- und niedrigsiedenden, spaltet man die Bestandteile jener Fraktionen und gewinnt so die eher benötigten kurzkettigen Kohlenwasserstoffe (Crackprozeß") (22, 43, 44).

1.3. Verwendung des Erdöls in der Industrie und seine Schadwirkungen.

In der Industrie spielt das Erdöl, bzw. seine Fraktionen neben der mengenmäßig am stärksten ins Gewicht fallenden Verwendung als Treibstoff und zur Wärme- und Energiegewinnung als Rohstoff für die Chemische und Farbenindustrie und als Kühl- und Schmiermittel vor allem in der Metallverarbeitung eine große Rolle. Im Jahre 1977 wurden dafür ungefähr 110 000 Tonnen Kühl-, Schmier- und Formöle verbraucht, davon als Schmierstoffe bei der Metallbearbeitung 55 % und als Maschinen- und Motoröl weitere 28 %. Arbeitsmedizinisch betrachtet hat die Gefährdung an bestimmten Arbeitsplätzen dieses Industriezweiges eine große Bedeutung, vor allem wegen der hohen Motordrehzahlen und der zur Verarbeitung notwendigen oder der dabei entstehenden höheren Temperaturen, die die Aerosolentstehung begünstigen.

Die Schadwirkung des Ölaerosols hängt natürlich von mehreren Gegebenheiten ab: der chemischen Zusammensetzung des verwendeten Mineralöls und seinen physikalischen Eigenschaften wie Löslichkeit, Viskosität, Siedepunkt, Dampfdruck und Teilchengröße, die hauptsächlich über Aufnahme und Verteilung in der Lunge entscheiden, während erstere die Wirkungen auf den Organismus bestimmt.

Entsprechend der Exposition sind vor allem zwei Organe von Erkrankungen durch Öleinwirkung betroffen: die Haut durch direkte Berührung und die Atemwege und die Lungen durch Inhalation von Öldampf und Ölnebel; in weit geringerem Ausmaß der Magen-Darm-Trakt durch Verschlucken von Ölbestandteilen. Um die Beziehung zwischen aufgenommener Dosis und Schadwirkung zu beurteilen, fehlt es heute vor allem an zwei Voraussetzungen: einem allgemein anerkannten Meßverfahren für die Ölnebelkonzentration am Arbeitsplatz und damit einem Anhaltspunkt für die aufgenommene Menge sowie genauen Untersuchungen über die Wirkungen aller Bestandteile des Schmier- und Motorenöls im lebenden Organismus (2, 19, 28, 36).

2. Toxikologie von Erdölbestandteilen

2.1. Giftwirkung der einzelnen Fraktionen

Die Schadwirkungen des Mineralöls und der aus ihm gewonnenen Produkte entstehen in erster Linie am Zentralnervensystem, an der Haut, dem Respirationstrakt und beim Reduplikationsmechanismus des Zellkerns im Sinne einer Mutagenese.
Nach Fraktionen getrennt sind es im einzelnen:
1) Petroläther, Benzin:
Benzin wird in großer Menge als Treibstoff, aber auch als Lösungsmittel für Lacke und Farben, Reinigungs- und Entfettungsmittel verwendet. Das handelsübliche Benzin besteht aus Hexan, Heptan und Oktan mit Verunreinigungen und Zusätzen hochgiftiger Substanzen, z.B. Benzol und Bleitetraäthyl. Todesfälle kamen durch Einatmen von Dämpfen in geschlossenen Tanks, vor allem beim Reinigen, durch versehentliche orale Aufnahme (letale Dosis 7,5g Benzin/kg Körpergewicht) und durch intravenöse Injektion in suizidaler Absicht vor (15ml führten innerhalb von acht Stunden zum Tode; alle Angaben nach Moeschlin (33). Benzin"Schnüffeln" kann zur Euphorie und einer Art "Abhängigkeit" führen.
Klinisch tritt bei der akuten Vergiftung zuerst das sogenannte Pränarkose-Syndrom mit Kopfschmerzen, Euphorie, evtl. im Sinne einer ausgeprägten Trunkenheit auf, dann kommen Reizerscheinungen der Schleimhäute, der Augen und der oberen Luftwege dazu, unter Umständen sogar eine basale Pneumonie (3). Bei oraler Aufnahme kommt es in der Regel frühzeitig zum Erbrechen, sodaß hier wirklich schwere Vergiftungen selten sind, weil die Schadstoffe gar nicht resorbiert werden können. Moeschlin (33) berichtet, daß in diesen Fällen reversible Leberschäden auftreten. Es kann bei beiden Arten der Aufnahme zu Blutaustritten in der Lunge, zu Pleuraschmerzen und Pleuraergüssen, die sich in wenigen Tagen wieder zurückbilden, kommen. Bei schwersten Vergiftungen tritt nach einem

Exzitationsstadium, evtl. mit Krämpfen, tiefe Bewußtlosigkeit und durch Atemlähmung oder Herz-Kreislaufstillstand der Tod ein. Ob es eine chronische Benzinvergiftung gibt, ist bis heute umstritten. Manche lehnen sie ab, wie Johnstone (20), andere führen sie auf Beimengungen an Benzol, Toluol oder Schwefel-Kohlenstoff zurück. Wieder andere (6) meinen, die Inhalation größerer Benzinmengen über längere Zeit führte zu einem organischen Psychosyndrom, das sich aber nach Beendigung der Exposition wieder zurückbildet. Inwieweit Schäden bei der chronischen Einwirkung von Benzin auftreten und durch welche Bestandteile sie zustandekommen, ist nicht geklärt.

2) Schmier- und Heizöl

Da die in dieser Fraktion enthaltenen Verbindungen sehr viel schwerer flüchtig sind, kommt es praktisch nicht zu einer akuten Vergiftung durch Einatmen, eher durch Aspiration oral aufgenommener Öle wie Laxantien, Nasentropfen, Paraffine bei Vergiftungen oder bei akzidenteller Aufnahme anderer Öle. Viel häufiger sind Wirkungen auf die Haut, vor allem die sogenannte Ölakne an exponierten Körperstellen wie Händen, Unterarmen, Gesicht. Es sind auch Fälle mit Plattenepithelkarzinomen der Haut und speziell des Skrotums beschrieben (Übersicht bei A.Zorn, 49).

3) Erdölpech

Hautveränderungen vom Erythem bis zum Karzinom treten bei dieser Fraktion am häufigsten auf und wurden auch bei ihr zuerst beschrieben.

4) Aromaten

Ein buntes Gemisch von aromatischen im einzelnen noch nicht vollständig identifizierten Verbindungen kommt in jeder Mineralölfraktion vor. Am besten untersucht sind die Wirkung und der Metabolismus des Benzols und seiner Derivate, die bei der akuten Vergiftung bis zum Koma, Krämpfen, Lähmung und Kammerflimmern, bei der chronischen zu Knochenmarksaplasie

oder Leukämie führen können. Andere Verbindungen, z.B. Naphthalin,schädigen vor allem die roten Blutkörperchen und die Nieren, andere, besonders Anthrazenderivate wie Benzpyren oder Benzanthrazenabkömmlinge sind sehr potente Karzinogene. Im ganzen ist diese Gruppe der Aromaten sehr vielfältig und unübersichtlich, noch wenig erforscht und wahrscheinlich für die größte Anzahl der Schädigung durch Mineralöle verantwortlich.

2.2. Fallbeschreibungen und Untersuchungen über die Schadwirkungen von Mineralöl

Seit über 50 Jahren wurden zahlreiche mehr oder weniger sinnvolle Experimente und Untersuchungen zur Bestimmung der Schadwirkungen von Mineralöl gemacht und noch mehr Kasuistiken über einzelne oder wenige Vergiftungsfälle veröffentlicht (Übersicht bei A.Zorn, 49).
Wirkungen auf das Zentralnervensystem haben praktisch nur die niedrigsiedenden Alkane bis zum Oktan. Sie sind sehr gut lipidlöslich, dringen also leicht ins Gewebe ein. Haydon et al (17) berichten über Versuche über die Blockierung der Fortleitung des Aktionspotentials am isolierten Nerven durch n-Alkane. Sie fanden, daß Pentan in einer Konzentration von 80% in einer den isolierten Nerven umspülenden Lösung die Nervenleitfähigkeit völlig aufhebt, d.h. eine Anästhesie bewirkt. Diese Fähigkeit nimmt mit steigender Zahl der Kohlenstoffatome der n-Alkane ab und ist beim Nonan praktisch nicht mehr vorhanden. Das Auftreten des Pränarkosesyndroms bei Benzindampfinhalation kann zum Teil über diese nervenblockierende Wirkung der niedrigsiedenden n-Alkane erklärt werden. Die Wirkungen auf das Zentralnervensystem, die auf diesem Mechanismus beruhen, sind aber vollständig reversibel.

Weitaus am meisten Interesse fanden die Lungenschädigungen, die schon früh beschrieben wurden (Laughlen 1925, 27). Sie

treten bei Aufnahme über die Atemwege, aber auch bei oraler Aufnahme mit nachfolgender Aspiration (Verschlucken, Erbrechen) vor allem bei Bewußtlosen und Kindern auf. Durch die hohe Oberflächenspannung breitet sich das Benzin sehr schnell auf den Schleimhäuten des Respirationstraktes bis in die Alveolen aus. Dadurch kommt es nach einer Latenzzeit von 12 - 24 Stunden zu einer hämorrhagischen Pneumonie und Pleuritis. Barzo et al (4) beschrieben das Auftreten schwerer Pneumonien nach Aspiration flüssiger Öle in größeren Mengen mit Atelektasen und Gewebszerfall und Erscheinungen wie Schock, neurologischen Symptomen, hämolytischer Anämie, toxischer Hepatitis, Nephritis und Blutungen in die serösen Häute. Nach Überstehen der akuten Erscheinungen bildete sich eine Lungenfibrose mit Granulomen und einer partiellen Zerstörung des Lungengewebes aus. Bei mehrmaliger Aspiration kleinerer Ölmengen seien gehäuft Infektionen des Respirationstraktes aufgetreten.
Wagner et al (45) führten aufgrund widersprüchlicher Aussagen über die Schädlichkeit des Mineralöls Experimente durch, wobei sie fünf verschiedene Versuchstierarten über eine bestimmte Zeit sechs Stunden täglich einer definierten Konzentration von Ölnebeln, die hauptsächlich aus gesättigten Kohlenwasserstoffen bestanden, aussetzten. Als Konzentrationen wählten sie einmal den in den USA gültigen MAK-Wert von 5 mg/m^3, für die andere Gruppe-das Zwanzigfache, 100 mg/m^3 und Expositionszeiten zwischen 12 und 26 Monaten. Sie überprüften die Wirkung auf Körpergewicht, Blutbild, Atemfunktion, Enzymspiegel in Serum und Lungengewebe, Tumorinduktion bei einem für Lungentumoren besonders empfänglichen Mäusestamm und histologische Veränderungen verschiedener Organe. Keine signifikanten Änderungen fanden sich bei allen Versuchstieren beim Körpergewicht, beim Blutbild (Hb, Hk, Leukozyten) und bei der Atemfunktionsprüfung, die aus versuchstechnischen Gründen nur bei den Kaninchen durchgeführt wurde, wobei als Verschlechterung eine Verminderung der Sauerstoffaufnahme von mehr als 10% gegenüber der Kontrollgruppe angenommen

wurde. Die Induktion von Lungentumoren bei einem bestimmten Mäusestamm zeigte eine leichte Zunahme in der Versuchsgruppe in den ersten elf Monaten, glich sich aber nach zwölf Monaten der in der Kontrollgruppe an, sodaß bei längerer Exposition keine Unterschiede mehr gefunden wurden. Signifikante Erhöhungen zeigte sich bei den Werten für die alkalische Phosphatase in Serum und Lungengewebe, aber nur bei der Gruppe mit einer Exposition bei 100 mg/m^3 für mehr als ein Jahr. Dieses Enzym wird bei Gewebszerfall und Reparationsvorgängen frei und tritt ins Blut über.Die wichtigsten Veränderungen traten bei der histologischen Untersuchung des Lungengewebes zutage. Bei der Gruppe, die der niedrigeren Konzentration ausgesetzt wurde, fanden sich vereinzelte Alveolarmakrophagen mit Öltröpfcheneinschlüssen und wenige dieser Makrophagen in den hilären Lymphknoten. Bei der Gruppe mit der Exposition mit 100 mg/m^3 war der Befund ausgedehnter, es bildeten sich kleinste Atelektasen und peribronchiale Infiltrationen aus Lymphozyten, Makrophagen und Epitheloidzellen. Solche Granulome sah man auch in den hilären Lymphknoten. Diese Veränderungen wurden mit zunehmender Expositionsdauer immer stärker, zuletzt traten vereinzelt interstitielle Bronchitis und Pneumonie und Anzeichen einer beginnenden Lungenfibrose auf.

Histologische Untersuchungen von Herz, Leber, Niere, Nebenniere, Magen, Duodenum und Milz ergaben keine Veränderungen. Wagner et al (45) zogen aus ihren Ergebnissen folgende Schlüsse:

1) Es kommt sehr selten zum Auftreten einer Lipidpneumonie.
2) Bei fast allen Tieren finden sich Öltröpfchen in den Alveolen, im Interstitium und in den hilären Lymphknoten mit Fremdkörperreaktionen (Makrophagen, Granulome), in den ausgeprägten Fällen Veränderungen im Sinne einer beginnenden Lungenfibrose.
3) Die alkalische Phosphatase in Serum und Lungengewebe steigt nach längerdauernder Exposition mit hohen Konzentrationen an. Sie ist nach Angaben verschiedener Autoren ein empfindlicher Indikator für Schädigungen des Lungengewebes, auch

z.B. durch Umweltgifte und Reizgase.

4) Eine mutagene Wirkung im Sinne einer Induktion von Lungentumoren bei besonders dafür empfänglichen Mäusen konnte nicht nachgewiesen werden.

Lykke und Stewart (29) untersuchten in letzter Zeit die Lungenveränderungen bei Ratten bei Einatmung von Benzindampf einer Konzentration von 100ppm bei 40 Stunden wöchentlicher und 6 - 12 Wochen langer Exposition mit licht- und elektronenmikroskopischen Präparaten. Dabei zeigten sich bei drei Viertel der untersuchten Tiere Veränderungen, die von kleinen Granulomen bis zu einer ausgedehnten Fibrose reichten, für welche kollagenbildende Fibroblasten und Makrophagen verantwortlich waren, außerdem bei länger als acht Wochen exponierten Tieren Abgeschlagenheit und Tachypnoe als klinisch faßbarer Ausdruck der Lungenfibrose. Sie fanden also morphologische und funktionelle Veränderungen bei vergleichsweise geringen Konzentrationen und kurzen Expositionszeiten.

2.3. Zusammensetzung des Kühl- und Schmieröls und toxikologische Beurteilung seiner Inhaltsstoffe

Im folgenden wollen wir als "Öl" die 110 000 Tonnen Fertigprodukte, die 1977 in der Metallindustrie der Bundesrepublik als Kühl- und Schmierstoffe verbraucht wurden, betrachten. Für die verschiedenen Zwecke als Kühl-, Schmier-, Maschinen- und Motorenöl wird natürlich nicht die reine Schmierölfraktion des Mineralöls verwendet, sondern es werden je nach Verwendungszweck sogenannte Additive zugesetzt, die erst das Öl für die entsprechende Verwendung geeignet machen. Dieser Anteil an Additiven beträgt bis zu 40%; im Durchschnitt für die in der Metallverarbeitung verwendeten Öle liegt er bei etwa 25%, d.h. der Mineralölanteil beträgt nur rund 75%. Dieser wird nach Hauptanteil in seiner chemischen Zusammensetzung in einen paraffinischen, naphthenischen oder aromatischen Typ eingeteilt.

Die Additive können aus polaren Zusätzen, EP-Wirkstoffen (Hochdrucksätze), Korrosionsinhibitoren, Antinebelzusätzen, Alterungsschutzstoffen, Entschäumern, Bioziden, Emulgatoren, multifunktionellen Wirkstoffen, Festschmierstoffen und Pigmenten bestehen und stellen eine große Vielfalt an chemischen Verbindungen dar, darunter Glykole, Glyzeride, Carbonsäuren, synthetische Ester, chlorierte Fettöle, Phosphorsäureester, Zinkdialkyldithiophosphate, Amide, Amine, Sulfonate und auch Kanzerogene wie Nitrosomorpholin. Etwa 60% der Öle sind wassermischbare Konzentrate und erfordern einen größeren Additiv-Anteil als nicht wassermischbare. Sie werden zur Anwendung im Durchschnitt zu einer 3% igen Emulsion verdünnt (Angaben nach Mang, 30).
Die häuptsächliche Ölnebelbelästigung entsteht in der metallverarbeitenden Industrie durch Schmierstoffe für die spanabhebende und spanlose Bearbeitung von Werkstücken aus Metall, aber auch durch Ölaerosole aus Maschinenschmierung und durch Korrosionsschutzöle. Die Verwendung von Ölen und Kühlschmierstoffen soll am Produktionsablauf eines Kaltwalzwerkes deutlich gemacht werden (Münch, 34). Dabei kommen als Expositionsarten direkter Hautkontakt oder Benetzen von Kleidung und Einatmen von Ölnebeln in Frage.

Lagermontage: Beim Reinigen der von den Walzen abgezogenen Lager und Schmieren vor dem erneuten Einsetzen kommt es zum direkten Hautkontakt vor allem der Hände, wobei die im allgemeinen zuverlässig getragenen Handschuhe als Schutz nicht immer ausreichen.
Beizanlage: Die warmgewalzten Bleche werden von Verunreinigungen befreit und mit Öl behandelt, das auf die Blechbänder aufgesprüht und abgequetscht wird, um eine feine Verteilung auf der Oberfläche zu erreichen. Die aufgetragene Ölmenge beträgt 0,5 kg pro Tonne Blech. Belästigung entsteht hauptsächlich durch Ölnebel. Dieser kann zum Teil durch Absauganlagen am Entstehungsort entfernt werden (22).

Tandemstraße: Eingesetzt werden Bänder mit einer Stärke von 2-3 mm und einer Einlaufgeschwindigkeit von 400 m/min und bei einer Auslaufgeschwindigkeit von 100 m/min kaltverformt auf eine Dicke von 0,5 - 1,5 mm. Dazu sind große Drucke erforderlich und im Walzspalt entsteht durch den hohen Druck und die Geschwindigkeit große Reibung und damit hohe Temperaturen. Deshalb muß in diesem Produktionsgang eine große Menge Walzemulsion auf die Werkstücke gebracht werden. Sie besteht aus 2% Öl für Schmierung und Verformbarkeit und 98% Wasser zur Kühlung. Die Emulsion wird um das Öl aus dem vorhergehenden Produktionsschritt, dem Beizen, angereichert. Die Beschäftigten, die diese Maschinen bedienen und unmittelbar danebenstehen, kommen direkt mit der Emulsion in Berührung, die Kleidung ist oft ölgetränkt. Die hohen Temperaturen begünstigen die Entstehung von Ölnebeln. Auch hier kann eine Absaugung Abhilfe schaffen. Die aufgebrachte Emulsionsmenge beträgt 24000 l/min; täglich sind 50-80 m^3 Wasser zu ersetzen. Öl wird vom Beizen durch die Bleche selbst herangebracht und braucht nicht ersetzt zu werden, man kann aber davon ausgehen, daß mit den 50-80 m^3 Wasser täglich auch die der Ölkonzentration in der Emulsion entsprechende Ölmenge in die Umgebung abgegeben wird, das wären 1000 - 1600 kg täglich.
Korrosionsschutz: Wenn die Bleche zur Auslieferung fertiggemacht werden, werden sie nochmals mit Öl eingespritzt, um sie vor Korrosion zu schützen; auch dabei entsteht Ölnebel. Insgesamt werden bei diesem Produktionsvorgang des Walzwerkes monatlich ungefähr 40-50 Tonnen Öl verbraucht, von denen ein großer Teil in Form von Ölnebeln an die Umgebung abgegeben wird.

Die verschiedenen Anforderungen an das Ölprodukt je nach Verwendungszweck und die Vielzahl der Additive bewirken ein großes Angebot unterschiedlicher Öle. In manchen Betrieben werden gleichzeitig über 20 verschiedene Ölsorten verwendet. Dadurch und durch den häufigen Wechsel an den

exponierten Arbeitsplätzen werden arbeitsmedizinische Erhebungen, die zu eindeutigen Aussagen führen, erschwert, wenn nicht unmöglich gemacht.
Der Mineralölanteil der Produkte ist mengenmäßig bei weitem der größte, aber der am wenigsten toxische. Die Inhalation kann zu Schleimhautreizungen und Pneumonien führen, der Hautkontakt zu Ölakne, Dermatitis und bei langer Einwirkung zu Hautkrebs.
Chemisch kann man drei Hauptgruppen unterscheiden, nämlich die hauptsächlich aus aliphatischen Kohlenwasserstoffen, aus Naphthenen oder aus Aromaten bestehenden.
Die Paraffine haben die geringste toxikologische Bedeutung. Nach Knecht (25) sind sie chemisch inert, werden im Körper nicht retiniert, ein Metabolismus ist nicht bekannt, sie sind praktisch ungiftig, bei Aspiration entstehen Pneumonien (4).
Die Naphthene oder Cycloparaffine können zu Dermatitis, nach Inhalation zu Lungenödemen und Pneumonien führen.
Aromaten haben unter den Mineralölbestandteilen eine größere Schadwirkung. Bei Inhalation können auch sie Lungenödem, Pneumonie und Dermatitis verursachen. Am wichtigsten ist aber die einigen Aromaten eigene karzinogene Potenz, bedeutungsvoll sind hier vor allem das Benzanthrazen und das Benzpyren.
Die meisten schädlichen Wirkungen verursachen die oben genannten Additive. Eine Übersicht über Toxikologie und Metabolismus einer ganzen Reihe dieser Stoffe gibt Knecht (25). Für andere fehlen bislang Untersuchungen über Giftigkeit und Kanzerogenität.
Epidemiologische Untersuchungen zur Ölnebelwirkung wurden durchgeführt ohne eindeutige Ergebnisse zu erbringen (Übersicht über die bisherigen Studien bei A. Zorn, 49). Als Beispiel sei eine Arbeit von Drasche und anderen aus dem Jahre 1971 zitiert (11). Sie befragten Beschäftigte in der Metallindustrie, die Ölnebelkonzentrationen zwischen

40 und 150 mg/m^3 ausgesetzt waren, nach Symptomen einer Schädigung des Atemtraktes (Husten, Auswurf, Dyspnoe, Häufigkeit von Erkältungskrankheiten) und einer Einschränkung der Leistungsfähigkeit und des Wohlbefindens. Dabei trennten sie Versuchs- und Kontrollgruppe nach Rauchern und Nichtrauchern und fanden bei exponierten Nichtrauchern sogar eine gewisse "Resistenz" gegen Erkrankungen der Atemwege, also eine "protektive" Wirkung der Ölnebelinhalation am Arbeitsplatz. Bei den Rauchern fanden sie keine Unterschiede zwischen Exponierten und der Kontrollgruppe. Dieses Ergebnis ist entsprechend des Inhalts der Fragestellung und damit der Reliabilität nur begrenzt verwertbar. Insbesondere erlaubt der relativ kleine Zeitraum, der bei dieser retrospektiven Studie erfaßt wurde, keine sichere Aussage über Kanzerogenität und Spätschädigungen.

2.4. MAK-Werte und Ölnebel-Konzentrationsbestimmungen am Arbeitsplatz

Seit 1966 gibt es in der Bundesrepublik keinen MAK-Wert für Ölnebelkonzentrationen mehr. Vorher war er, wie heute noch in den USA und manchen Ostblockländern, auf 5 mg/m^3 festgesetzt. Er wurde schließlich fallengelassen, weil keine einheitliche chemische Definition existiert und über Schadwirkungen zu wenig gesicherte Aussagen gemacht werden können (9). Für einzelne Bestandteile sind allerdings Höchstwerte festgelegt, z.B. für Hexan 100ppm (entspricht 360 mg/m^3), für Heptan 500ppm (2000 mg/m^3), für Oktan 500ppm (2350 mg/m^3), Toluol und Xylol 200ppm (750, bzw. 870 mg/m^3). Bitumen und Steinkohlenteer werden genauso wie Benzol als kanzerogen angesehen, daher kann für sie keine unbedenkliche Konzentration angegeben werden; für das Benzol gibt es eine Technische Richtkonzentration von 8ppm (26 mg/m^3).

Diese Richtkonzentration für das vergleichsweise sehr giftige Benzol steht natürlich im Mißverhältnis zu den in anderen Ländern geltenden MAK-Wert von 5 mg/m^3 für Ölnebel. So verwundert es kaum, daß letztere sehr niedrige Schwelle bei Messungen von Grupinski et al (15) weit überschritten wurde. Sie fanden in insgesamt 34 Arbeitsräumen an den Arbeitsplätzen Konzentrationen zwischen 22 und 326 mg Öl/m^3 (Durchschnitt 110 mg/m^3) und in der Raumluft zwischen 8 und 402 mg/m^3 (Durchschnitt 87 mg/m^3).
Über das beste Meßverfahren für Ölnebelkonzentrationen ist man sich noch nicht einig. Drei Verfahren werden angewandt: Messungen mit Filtergeräten (erfaßt nur Ölnebel, Verfälschung aufgrund der Strömungsverhältnisse, da abgeschiedenes Öl zum Teil wieder verdampft), mit Streulichtverfahren (erfaßt nur Ölnebel, aber ohne Eingriff in das zu messende System), und das Auswaschverfahren (erfaßt sowohl Ölnebel als auch die Gasphase). Letzteres wird heute wohl von den meisten Untersuchern bevorzugt (Übersicht über die Meßmethodik bei Wild, 47). Entscheidend ist aber die Kenntnis der Tröpfchengröße, da nur Partikel mit einem Durchmesser von weniger als 10 um in die Alveolen vordringen können (9).

2.5. Neuere Berichte über physiologische Wirkungen der n-Alkane

Römmelt und Dirnagl (37) bestimmten an jeweils 25 Versuchspersonen das Ausmaß der pulmonalen Resorption und Wiederausatmung von sechs Kohlenwasserstoffen, nämlich der Aliphaten Pentan, Hexan und Heptan und der Aromaten Benzol, Toluol und Xylol. Sie setzten die Versuchspersonen einer mit Kohlenwasserstoffen angereicherten Umgebung aus und maßen die Konzentration in der Ein- und Ausatmungsluft. Dabei stellte sich rasch ein Gleichgewicht ein und während des Aufenthalts in der angereicherten Raumluft werden von den Aromaten zwischen 50 und 60%, von den Aliphaten zwischen

25 und 35% im Körper retiniert, der Rest also sofort wieder abgeatmet. Unmittelbar nach der Exposition fanden sie in den ersten zehn Minuten nur 2-5% der Werte während des Gleichgewichtszustandes in der Ausatmungsluft, danach konnten keine Kohlenwasserstoffe mehr in der Ausatmungsluft nachgewiesen werden, was bedeuten würde, daß sie auf jeden Fall resorbiert und entweder auf anderem Wege unverändert ausgeschieden oder verstoffwechselt werden.
Die Verstoffwechselung von Alkanen und deren Derivaten durch Mikroorganismen ist schon länger bekannt (8, 12, 13, 16, 24, 32). Diese Fähigkeit wurde aber jeweils erst durch Wachstum auf entsprechenden alkanangereicherten Nährböden induziert.
Asperger und Aurich (1) untersuchten mit Hilfe polargraphischer Sauerstoffmessung die Veratmungskinetik von n-Alkanen und deren Derivate mit zwölf bis sechzehn Kohlenstoffatomen bei nicht wachsenden Bakterien (Acinetobacter calcoaceticus), die zuvor auf Hexadekan bzw. Acetatnährböden kultiviert worden waren. Es bestätigte sich, daß die Veratmungsrate der auf Hexadekan gewachsenen Bakterien viel höher war als die der auf Acetat gewachsenen. Weiterhin stellte sich heraus, daß die Alkansäuren, die entsprechenden Alkohole und manche Ketone viel bessere Substrate waren als die n-Alkane und manche dieser Derivate sogar von den auf Acetat gewachsenen Bakterien veratmet wurden, eine Induktion für sie unter Umständen also nicht notwendig ist. Die Oxidation ging rechnerisch bei allen Substraten über Acetat hinaus, jedoch nicht bis zu Kohlendioxid und Wasser. Vermutlich werden nicht vollständig oxidierte Substanzen ins Medium abgegeben.

Tulliez und Borries (42) gaben Ratten im Futter kleine Dosen (1 mg, bzw. 200 mg) radioaktiv markierten Heptadekans und maßen die Aktivitäten im Kot, Urin und Gesamttier nach bestimmten Zeiten.
Kot und Urin wurden täglich für sechs Tage gemessen, danach

die Tiere getötet und die Aktivität im Gesamtkörper bestimmt. Anhaltspunkte über die Kinetik gewann man von Tieren, die nach 6, 12, 24 oder 48 Stunden getötet wurden.
Sie hatten insgesamt nach sechs Tagen wiedergefunden (in % der gefütterten Dosis):

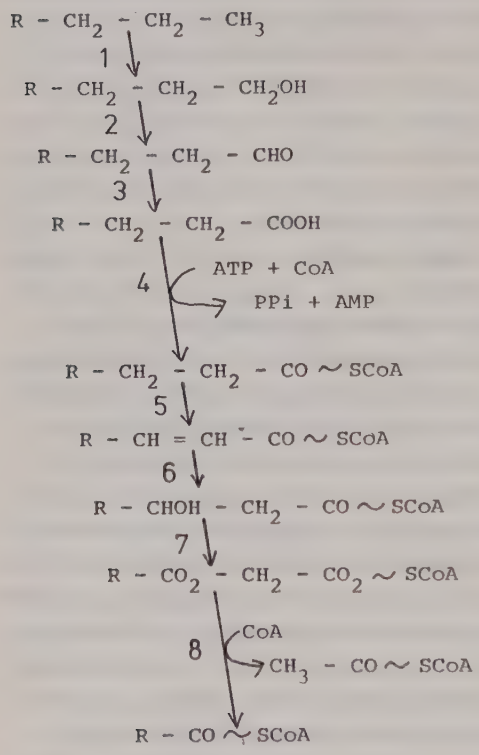
	Kot	Urin	Ganzkörper	insgesamt
bei der Gruppe mit 1 mg	0,96	1,12	36,9	39,0
bei der Gruppe mit 200 mg	28,0	0,47	25,2	53,7

Von dem nicht wiedergefundenen Anteil nahmen sie an, daß er als CO_2 in der Ausatmungsluft ausgeschieden worden war. Aus diesen Zahlen kann man schließen, daß oral gegebene kleine Mengen vollständig resorbiert und relativ rasch verstoffwechselt werden, wobei der größte Teil der Stoffwechselendprodukte mit der Ausatmungsluft ausgeschieden werden muß. Bei größeren Mengen wird wohl bei oraler Aufnahme ein beträchtlicher Anteil gar nicht resorbiert, daher die relativ große Menge an Aktivität im Kot, die unverändertem Heptadekan entsprach, im Urin dagegen kam überhaupt kein Heptadekan vor.
In Lipidextrakten von Leber und Fettgewebe war die Aktivität folgendermaßen verteilt (Angaben in % der insgesamt als Fettsäuren wiedergefundenen Aktivität):
Kettenlänge 16 C-Atome: 16%; 17 C-Atome ohne Doppelbindung: 48,5%, 17 C-Atome mit einer Doppelbindung: 22,8%, 18 und mehr C-Atome: 12,7%; d.h. das Heptadekan wird zur Heptadekansäure oxidiert, die dann die normale ß-Oxidation durchläuft und einzelne Bruchstücke werden wieder in Fettsäuren mit größeren Kettenlängen eingebaut. Nach 24 Stunden findet man Aktivität in Mono-, Di- und Triglyceriden, freien Fettsäuren, Cholesterin und anderen Lipiden eingebaut, wobei zum Einbau in bestimmte Verbindungen ein vorheriger Abbau zum Acetat notwendig ist. Die Autoren analysierten sehr genau die Verteilungsmuster der Aktivität auf einzelne

Lipide und auf Ausscheidung, bzw. Speicherung im Körper in Abhängigkeit von der Zeit und konnten so manche Angaben zum Stoffwechsel machen, maßen aber die Ausscheidung von Aktivität in der Ausatmungsluft nicht, geschweige denn versuchten sie dort eventuell vorkommende Verbindungen zu identifizieren. Sie setzten einfach voraus, daß alle nicht wiedergefundene Aktivität verstoffwechselt und als CO_2 abgeatmet würde. Eine Abatmung unveränderten Heptadekans oder anderer Verbindungen zogen sie nicht in Betracht.
Bestimmte Oxidasen und Dehydrogenasen, die für die ß-Oxidation der Fettsäuren notwendig sind, fanden Kawamoto et al (21) in den Mikrosomen einer Hefe, Candida tropicalis, die auf n-Alkanen kultiviert wurde. Nach ihren Untersuchungen werden die Alkane im Zytoplasma oder in den Mikrosomen zur entsprechenden Fettsäure oxidiert und zu CoA-Estern aktiviert. Danach durchlaufen sie in den Mikrosomen die ß-Oxidation, wobei am Ende aus Acetyl-CoA, Isocitrat (aus dem Zitronensäurezyklus des Mitochondrismus) und Glyoxalat, Malat und Succinat entstehen, die in die Mitochondrien wandern, um dort im Zitronensäurezyklus weiteroxidiert zu werden. Ob das benötigte Acetyl-CoA allein aus den Mikrosomen stammt oder aber auch im Mitochondrium eine ß-Oxidation der Alkan-Fettsäuren abläuft, ist nicht geklärt, genausowenig wie die Frage, ob diese Ergebnisse überhaupt auf andere Organismen, z.B. Säugetiere oder den Menschen, übertragbar sind.

Nach Schlegel (39) werden längerkettige Alkane von einer größeren Zahl von Bakterien als Stoffwechselsubstrat verwertet. Dabei konnte nachgewiesen werden, daß in einer durch eine Monooxygenase gesteuerten Reaktion das endständige C-Atom oxidiert wird. Da dazu Sauerstoff notwendig ist, kann diese Reaktion nur von aerob lebenden Mikroorganismen ausgeführt werden. Die Oxidation führt über den entsprechenden Alkohol zum Aldehyd und schließlich zur Fettsäure, die auf dem üblichen physiologischen Stoffwechselweg im Fett-

säurezyklus abgebaut wird:



Dabei sind folgende Enzyme beteiligt:

1 Monooxygenase (Alkan - 1 - hydroxylase)
2 Alkohol - Dehydrogenase
3 Aldehyd - Dehydrogenase
4 Acetyl - CoA - Synthetase
5 Acyl - CoA - Dehydrogenase
6 3 - Hydroxyacyl - CoA - Hydrolase
7 3 - Hydroxyacyl - CoA - Dehydrogenase
8 ß - Ketohiolase (14, 35, 38, 39, 48).

Soweit zur Verstoffwechselung der Alkane, die bei bestimmten Lebewesen schon zu einem guten Teil aufgeklärt wurde. Ein weiteres Problem ist die Frage der Mutagenität dieser Stoffe.

Lankas et al (26) berichten über Forschungen zur Aktivität von Alkanen als "Promotor-Substanzen" bei der Entstehung von Krebs. "Promotors" sind solche Substanzen, die Krebs bei Zellen zum Ausbruch bringen, die vorher durch ein Karzinogen in einer Dosis, die für die Krebsentstehung allein noch nicht ausreicht, geschädigt wurden; sie gehören zu den Kokarzinogenen.

Die Autoren testeten diese "Promotorfähigkeit bei n-Alkanen mit einer Kettenlänge zwischen 6 und 16 C-Atomen an einer Säugetiertzellkultur. Den auf bestimmten Nährmedien kultivierten Hamsterzellen wurde zuerst Methylazoxymethanolacetat (MAM), ein starkes Mutagen, zugegeben, nach dessen Entfernung das zu prüfende Alkan zugeführt und danach die Mutanten ausgelesen, die Ouabain-resistent geworden waren. Nach einer weiteren, zweiwöchigen Inkubation mit den Alkanen wurden die Mutanten-Kolonien gezählt.

Die direkte Toxizität der Alkane wurde geprüft, indem sie ausgesäten Zellkulturen zugegeben und die Zahl der überlebenden Zellen bestimmt wurden. Die Autoren kamen zu den Ergebnissen:

1) Alkane allein beeinflussen die Überlebensrate nicht und zeigen keine Mutagenese,

2) die Steigerung der MAM-induzierten Mutagenese ist eindeutig bei den Alkanen von C_{10} bis C_{14}, und zwar am stärksten beim Dodekan. Hexan, Oktan und Hexadekan haben keine "Promotor" - Aktivität, aber ein Dodekanderivat, das 1-Phenyldodekan, in viel stärkerem Maße als die n-Alkane.

3. Experimentelle Untersuchungen zum Dodekan-Stoffwechsel bei Wistar-Ratten

3.1. Begründung und Ziel der Arbeit

Da die Ergebnisse der bisherigen experimentellen und epidemiologischen Studien zur toxikologischen Wirkung von Mineralölnebeln, wie sie vor allem in der metallverarbeitenden Industrie als Motorenöl- und Kühlschmierstoffnebel vorkommen, widersprüchlich sind, untersuchte Zorn (49) die Verteilung von inhaliertem radioaktiv markiertem Maschinenöl, bzw. Dodekan als Modellsubstanz für die Gruppe der Paraffine, auf die einzelnen Organe und ihre Ausscheidung in Abhängigkeit von der Zeit. Dies ist die Voraussetzung für eine bessere Beurteilung toxikologischer Wirkungen, vor allem der Schäden bei langer Expositionsdauer. Dabei fanden sich Anzeichen für eine Verstoffwechselung des inhalierten Dodekans bis zum Kohlendioxid. Da ein quantitativer Zusammenhang zwischen inhalativ aufgenommenen Dodekan und der wiedergefundenen Aktivität im Körper und in den Ausscheidungsprodukten aus meßtechnischen Gründen sehr schwer herzustellen war, sollte nun hier versucht werden, durch Injektion einer bestimmten Menge Dodekan, bei der man eher davon ausgehen konnte, daß sie vollständig resorbiert werden würde, weitere Anhaltspunkte zur Beurteilung dieses Zusammenhangs zu gewinnen. Dabei wurde nach möglichen Stoffwechselprodukten dieser bisher für inert gehaltenen Substanzen gesucht.
Sollte sich eine eindeutige Beziehung zwischen der Menge des aufgenommenen Dodekans und der Ausscheidung von Dodekan selbst oder irgendeines Stoffwechselproduktes herausstellen, könnte durch weitere, dann statistische Untersuchungen geprüft werden, ob es als Indikator bei der Überwachung der inhalierten Mineralölmenge an bestimmten Arbeitsplätzen durch Zurückrechnen von der Ausscheidungsmenge in einer bestimmten Zeiteinheit auf die vorhandene Konzentration im Körper und die insgesamt aufgenommene Menge dienen kann. Von der gemessenen Ölnebelkonzentration am Arbeitsplatz kann man nur

sehr bedingt über die tatsächliche Resorption etwas aussagen. Im Anschluß an jene Arbeit, die das morphologische Verhalten inhalierten Ölnebels in den Atemwegen und der Lunge und die Verteilung von inhaliertem radioaktiv markiertem Maschinenöl, bzw. Dodekan auf die einzelnen Organe sowie ihre Ausscheidungskinetik untersucht, und die weiter oben zitierten Veröffentlichungen war durch Versuche mit markiertem und nicht markiertem Dodekan an Ratten der Klärung folgender Fragen näherzukommen:

1) Lassen sich die bis jetzt gefundenen Ergebnisse über die Verstoffwechslung des heute noch in den meisten Büchern als "inert" bezeichneten Dodekans bestätigen?

2) Wie groß ist der Anteil des Dodekans, bzw. der Aktivität, den man, in Abhängigkeit von der Zeit, in den ersten 96 Stunden in Ausatmungsluft, Kot und Urin wiederfindet und sind irgendwelche Stoffwechselprodukte zu identifizieren, die ein biologisches "monitoring" über die aufgenommene Menge ermöglichen könnten?

3) Entspricht die gesamte in der Atemluft wiedergefundene Aktivität dem Stoffwechselendprodukt CO_2 oder werden auch noch andere Metaboliten oder gar unverändertes Dodekan abgeatmet, und wenn ja, wie ist die Abhängigkeit von der Zeit in den ersten 96 Stunden nach der Exposition?

Das Ziel war, wie schon vorher dargelegt, über den Nachweis von Dodekan oder seinen Stoffwechselprodukten, die über Ausatmungsluft, Kot oder Urin ausgeschieden werden, einen Hinweis auf eine quantitative und zeitliche Beziehung zur insgesamt aufgenommenen Menge zu erhalten, um nach Bestätigung und genauerer Festlegung dieser Beziehung durch weitere Versuche, die eine statistische Auswertung erlauben, über eine relativ einfache Bestimmung einer einzelnen Substanz aus einem Gemisch vieler auf diese Gesamtmenge rückrechnen zu können.Die Möglichkeit wäre bei der Überwachung von ölnebelexponierten Arbeitsplätzen sehr wichtig, da dort Aussagen über Dosisgemische und der meßtechnischen Schwierigkeiten schwer zu erhalten sind und bis jetzt zu deutlichen Widersprüchen geführt haben.

3.2. Versuchsanordnung

Insgesamt wurden fünf Ratten verschiedene Mengen Dodekan appliziert:

Nr. 1	6o	µl	markiertes Dodekan subkutan
Nr. 2	24o	µl	
Nr. 3	5oo	µl	unmarkiertes Dodekan intraperitoneal.
Nr. 4	1ooo	µl	
Nr. 5	2ooo	µl	

Die geringe Zahl an Versuchstieren erklärt sich daher, daß diese Arbeit als Pilotstudie gedacht war, die die Voraussetzungen für eine notwendige spätere statistische Untersuchung schaffen sollte, weil die Bedingungen, unter denen eine solche statistische Untersuchung mit einer großen Zahl von Tieren sinnvoll sein würde, vorher nicht bekannt waren.

Dies erschien im Hinblick auf den im Tierschutzgesetz niedergelegten Grundsatz, wonach Tierversuche auf das unerläßliche Maß zu beschränken sind, geboten. Nur wenn die zu erwartenden Reaktionen im Organismus im Prinzip gekannt sind und man einen Anhalt über die quantitativen Zusammenhänge hat, können statistische Versuche mit geringstmöglichem Einsatz an Versuchstieren geplant und durchgeführt werden.

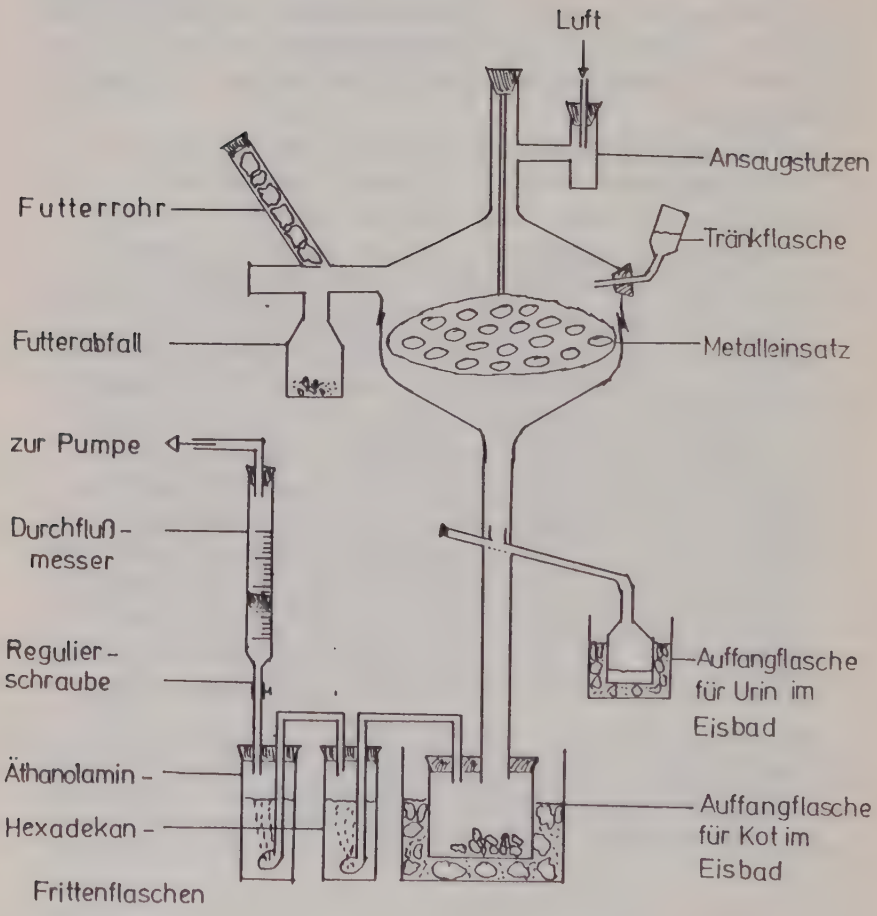
Den Ratten wurde die angegebene Dosis in einer Enfluran-Inhalations-Kurznarkose appliziert und sie danach sofort in einen Glas-Stoffwechselkäfig mit Metalleinsatz gesetzt, durch den mit Hilfe einer Pumpe 4o Liter Luft pro Stunde gesaugt wurden.

Von den Ratten unverändert abgeatmetes Dodekan fingen wir in einer mit 3o ml Hexadekan gefüllten Frittenflasche auf, zusätzlich bei den mit markiertem Dodekan gespritzten das CO_2 in einer mit 1oo ml Äthanolamin gefüllten Frittenflasche. Kot und Urin fiel durch die Löcher des Rosts, bzw. lief an der Glaswand entlang und durch das Trennrohr in zwei

Erlenmeyerkolben, die in Eiswasserbädern standen. Alle Schliffe wurden mit gefetteten Glasstopfen und Schliffkammern, bzw. Gummiring luftdicht verschlossen. Die Luft wurde mit einer Pumpe durch das obere Ansatzstück ein- und unten durch die hintereinandergeschalteten Frittenflaschen wieder herausgesaugt. Die Durchflußmenge wurde nach dem Durchflußmesser mit der Regulierschraube auf 4o l/h eingestellt. Futterrohr und Tränkflaschen waren ständig gefüllt. Die Proben wurden jeweils nach 24, 48, 96 Stunden gewechselt.

Die Gesamtmeßdauer von 96 Stunden ergab sich aus den Ergebnissen von Zorn, die zeigte, daß die Ausscheidung des inhalierten Dodekans und seiner Metaboliten Exponentialfunktionen 2. bzw. 3.Ordnung folgen. Betrachtet man nur die ersten 72 bis 96 Stunden nach der Exposition, läßt sich die Abatmungskinetik annähernd durch eine Exponentialfunktion 1.Ordnung beschreiben. Bei den Folgerungen aus unseren Versuchsergebnissen legten wir zugrunde, daß die Ausscheidung in den ersten 96 Stunden einer solchen Funktion folgt. Nach dieser Zeit waren mehr als 9o % der insgesamt ausgeschiedenen Aktivität gewonnen, d.h. die entscheidenden Aussagen zur Stoffwechselkinetik lassen sich innerhalb dieses Zeitraumes machen. Durch die Versuchsanordnung wurden Kot und Urin gut getrennt, der Urin war gar nicht und der Kot ganz wenig mit Futterresten verunreinigt, weil die Tiere die Futterstücke nicht aus dem Rohr herausnehmen konnten. Für den Aufbau wurden ausschließlich Glasgeräte verwendet, da das Dodekan durch Gummi- oder Plastikschläuche absorbiert wird (s.Abb. 1). Die Proben wurden sofort verarbeitet und gemessen.

Abb.1 : Versuchsanordnung



Durchgeführte Messungen:
Von allen Tieren standen für jeden Meßzeitraum jeweils drei Proben Hexadekan mit aufgefangenem Dodekan, Kot und Urin und von den beiden mit markiertem Dodekan gespritzten Tieren zusätzlich über Äthanolamin aufgefangenes CO_2 zur Verfügung. In diesen Proben wurden folgende Messungen durchgeführt:

A) Ausatmungsluft:
   1) Unverändert abgeatmetes Dodekan in den Hexadekanproben chromatographisch bestimmt.
   2) Unverändert abgeatmetes Dodekan und eventuell vorhandene andere Stoffwechselprodukte in den Hexadekanproben im Szintillationszähler bestimmt (nur bei den Tieren 1 und 2).
   3) Abgeatmetes CO_2 in den Äthanolaminproben bestimmt (nur bei den Tieren 1 und 2).

B) Kot und Urin, jweils vor und nach Verseifung extrahiert:
   1) Unverändert ausgeschiedenes Dodekan chromatographisch bestimmt.
   2) Chromatographisch auf Dodekanol, Dodekanon, Hexandiol und Hexandion untersucht.
   3) Ausgeschiedene Gesamtaktivität bestimmt (nur bei den Tieren 1 und 2).
   4) Nach Derivatisierung der freien Fettsäuren Fettsäuremethylester von gesättigten C_{12} -, C_{14} - und C_{16} - Fettsäuren gemessen.

C) Aus den bei diesen Messungen gewonnen Werten kann die Gesamtausscheidung der verabreichten Menge gegenübergestellt und so der Verbleib des Dodekans ermittelt werden.

Um einen Vergleich mit Tieren zu haben, die kein Dodekan erhalten hatten, nahmen wir fünf andere Wistar-Ratten, hielten sie unter den gleichen Bedingungen für 24 Stunden

einzeln in Stoffwechselkäfigen und bestimmten bei Ihnen die Ausscheidung an unverändertem Dodekan in Ausatmungsluft, Kot und Urin sowie an C_{12}-, C_{14}- und C_{16}- Fettsäuremethylestern im Kot.

Verwendete Tiere, Geräte und Chemikalien:

-Weibliche Albinoratten, Stamm Wistar (S IV/5o),Alter fünf Monate, Gewicht 185-21og, Nahrung: Altromin 132o Diät für Ratten und Mäuse und Wasser ad libitum.
-Stoffwechselkäfige mit Metallgittereinsätzen, getrenntem Auffangsystem für Kot und Urin und Luftdurchsaugeinrichtung gemäß Abb. 1
-Schüttelmaschine
-Rotationsverdampfer
-Gaschromatograph Perkin-Elmer F22 mit verschiedenen Säulen
-Szintillationszähler Beermann LS 333
-Hamilton - Spritzen
-Plastikgefäße zur Szintillationszählung

-Dodekan
-Hexadekan
-Methanol
-Dodekanol
-Hexandiol
-Hexandion
-Dichlormethan
-Salzsäure
-Diäthyläther
-Pentan
-Pyridin
-Bortrifluorid-Methanol alle von der Fa.Merck, Darmstadt

-Tridekansäurelösung 2%; Fa.Serva, Heidelberg

-Radioaktiv markiertes Dodekan: 1-^{14}-C-Dodekan, spez. Aktivität 7oo ooo cpm/ml; Fa. Hoechst, Frankfurt

3.3. Durchführung der Versuche und Messungen

3.3.1. Ausatmungsluft

3.3.1.1. Unverändert abgeatmetes Dodekan in der Ausatmungsluft (gaschromatographisch bestimmt)

Von dem in den Frittenflaschen vorhandenen Hexadekan mit aufgefangenem unverändert abgeatmetem Dodekan wurden mit einer Hamilton - Spritze 1 µl direkt in den Gaschromatographen eingespritzt und die Konzentration an Dodekan mit Hilfe des Integrators durch Vergleich mit Eichlösungen von 10, 100 und 1000 ppm Dodekan in Hexadekan errechnet.

Geräte:
Hamilton - Spritze
Gaschromatograph
Einstellung des Gaschromatographen: Flammenionisationsdetektor (FID), Säule Apiezon L auf Chromosorb W 80 - 100, 4 m lang. Temperaturen: Ofen 185°C, Injektor 220°C, Detektor 220°C. N_2-Strom 40 l/min.
Eichsubstanzen: Hexadekan, Dodekan, beides p.p.a.

Wiederfindungsrate des abgeatmeten Dodekans in der Hexadekan-Waschflasche.
Um den Anteil des abgeatmeten Dodekans zu bestimmen, den man tatsächlich im Hexadekan wiederfindet, gaben wir eine bestimmte Menge Dodekan in den Ansaugstutzen (s.Abb.1) und verschlossen ihn sofort mit einem Stopfen mit eingelassenem Glasrohr, sodaß das Dodekan nicht mehr nach außen verdampfen konnte, sondern durch den Luftstrom von 40 l/h nach unten und durch das Hexadekan gesaugt wurde. Nach 24 h, zu dieser Zeit war alles Dodekan verdampft, wurde die Hexadekan-Probe gemessen. Dabei fanden wir folgende Werte:

Dodekan im Ansaugstutzen	Im Hexadekan wiedergefunden	Wiederfinderate in %
20 µl	17,7 µl	88,5
50 µl	43,8 µl	87,6
100 µl	91,7 µl	91,7
250 µl	234,6 µl	93,8

Im Durchschnitt wurden also rund 90 % wiedergefunden. Bei der Berechnung der Dodekanwerte in den Versuchen wurde der Verlust von 10 % berücksichtigt.

3.3.1.2. Unverändert abgeatmetes Dodekan in der Ausatmungsluft der Tiere 1 und 2 (mit Szintillationszähler bestimmt)

Zusätzlich zu der Bestimmung im Gaschromatographen wurden Hexadekanproben im Szintillationszähler gemessen, und zwar jeweils 2 ml Hexadekan mit 15 ml Toluol-Szintillator. Da die Ergebnisse aus Chromatographie und Szintillationszählung bei jeder Probe mit $\pm$ 3% übereinstimmten, bildeten wir den Mittelwert aus beiden Messungen als Grundlage für die weitere Auswertung.

3.3.1.3. Abgeatmetes $C\rho_2$ in der Ausatmungsluft der Tiere 1 und 2 (mit Szintillationszähler bestimmt)

Von dem Äthanolamin, in dem das CO_2 der Ausatmungsluft aufgefangen wurde, nahmen wir 1 ml, versetzten mit 7 ml Methanol und 10 ml Toluol-Szintillator und zählten im Szintillationszähler. Bei dieser Mischung ergab sich die größte Zählausbeute von 91 %.

Material und Geräte:
Szintillationszähler
Plastik-Zählgefäße

Chemikalien:
Methanol
Äthanolamin
Toluol-Szintillator

3.3.1.4. Andere Verbindungen in der Ausatmungsluft

Alle Hexadekanproben wurden chromatographisch auf die unter Umständen zu erwartenden Stoffwechselprodukte Dodekanol, Hexandiol, Hexandion untersucht.

3.3.2. Kot und Urin, jeweils vor und nach Verseifung extrahiert

Extraktion von Kot und Urin mit Dichlormethan (Modifiziert nach DFG, Kommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Arbeitsgruppe "Analytische Chemie": Analytische Methoden, Band II; 10). Prinzip: Dodekan (und evtl. vorhandenes Dodekanol, Hexandiol, Hexandion) wird aus Kot und Urin vor und nach saurer Hydrolyse mit Dichlormethan extrahiert. Die eingeengten Extrakte wurden gaschromatographisch untersucht und die Dodekankonzentration mit Eichlösungen und Integrator bestimmt.

3.3.2.1. Urin

a) 5 ml Urin werden zweimal mit je 30 ml und einmal mit 10 ml Dichlormethan versetzt, jeweils 5 Minuten auf der Schüttelmaschine geschüttelt und die untere organische Phase mit einer 10 ml - Meßpipette abgezogen und durch ein Filter in einen 100 ml - Rundkolben pipettiert. Der gesamte Extrakt wird am Rotationsverdampfer bei 22 C auf ca. 1 ml eingedampft, in ein Reagenzglas überführt,

der Kolben dreimal mit je 1 ml Dichlormethan nachgespült und Extrakt und dazugegebene Spülflüssigkeit auf 2,0 ml eingestellt.

b) 2,0 ml der nach der Extraktion verbleibenden Harnprobe werden in ein 50 ml - Reagenzglas mit Schliffstopfen gegeben und mit destilliertem Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Dann gibt man 2 ml 32%ige Salzsäure hinzu, verschließt mit einer Klammer und stellt das Gemisch eine Stunde lang in ein Wasserbad von 90°C. Nach dem Abkühlen wird dreimal mit je 50 ml Dichlormethan extrahiert und wie bei a) weiterverfahren und am Schluß der Extrakt auf 2,0 ml eingestellt.

3.3.2.2. Kot

a) 5 g Kot werden in 10 ml Wasser und 4 ml Methanol mit einem Glasstab in einem 100 ml - Glas mit Schraubdeckel zerstoßen und aufgerührt, zweimal mit je 50 ml und einmal mit 30 ml Dichlormethan versetzt, jweils 20 Min. auf der Schüttelmaschine geschüttelt, zentrifugiert, die untere organische Phase abgezogen und durch ein Filter in einen 250 ml - Rundkolben gegeben. Der Extrakt wird am Rotationsverdampfer bei 22°C auf 2,0 ml eingedampft, in ein Reagenzglas überführt, dreimal mit je 2,0 ml Dichlormethan nachgespült und Extrakt und dazugegebene Spülflüssigkeit auf 2,0 ml eingestellt.

b) Der gesamte Kotrückstand wird in einen 250 ml - Schliffkolben mit Kühler geschüttelt, 10 ml destilliertes Wasser und 10 ml 32%ige Salzsäure zugegeben und eine Stunde lang im Ölbad bei 100°C gekocht. Nach dem Abkühlen wird dreimal mit je 60 ml Dichlormethan extrahiert und wie bei a) weiterverfahren, und am Schluß der Extrakt auf 2,0 ml eingestellt.

3.3.2.3. Extraktion von Kot und Urin der Ratten 1 und 2 mit Äther

Da Dichlormethan bei der Szintillationszählung sehr starken Quench verursacht, ist es für die Extraktion zu diesem Zweck ungeeignet. Wir verwendeten daher Diäthyläther, wodurch die Zählausbeute 97% betrug. Die Extraktion ging genauso vor sich wie bei den anderen Proben, sodaß wir am Schluß von jeder Probe zwei Ätherextrakte von je 2,0 ml hatten. Davon wurde 1,0 ml mit 15 ml Toluol-Szintillator im Szintillationszähler gemessen, der andere Teil wurde zur Chromathographie verwendet.

3.3.2.4. Von jeder Kot- und Urinprobe wurden auf diese Weise zwei Extrakte mit folgenden Substanzen gewonnen:

a) In den Extrakten vor der Hydrolyse: im Urin, bzw. Kot vorliegendes Dodekan, Dodekanol, Hexandiol, Hexandion.
b) In den Extrakten nach der Hydrolyse: Proteinangelagertes oder in Micellen eingeschlossenes Dodekan, verestertes oder konjugiertes Dodekanol, Hexandiol, Hexandion.

Geräte: Schüttelmaschine, Rotationsverdampfer, Wasserbad
Chemikalien: Dichlormethan
Methanol
Salzsäure 32%

Jeder Extrakt wurde zuerst auf unverändertes Dodekan untersucht und die Konzentration mit Hilfe von Eichlösungen und Flächenvergleich durch den Integrator bestimmt.

Einstellung des Gaschromatographen für die Dodekanmessung:
Säule Apiezon L auf Chromosorb W 8o - 1oo, 4 m lang
Ofen 185°C, Injektor 22o°C, Detektor 22o°C
N_2 - Strom 4o l/min.

Danach wurden alle Extrakte genauso auf die eventuell vorhandenen Stoffwechselprodukte Dodekanol, Hexandiol und Hexandion untersucht.

Einstellung für die Messung von Metaboliten des Dodekan:
Säule Polyäthylenglykol 1500 auf Chromosorb G 80 - 100, 2 m lang
Ofen 150°C, Injektor 200°C, Detektor 200°C
N_2 - Strom 30 l/min.
Mit diesen Bedingungen wurden die drei Substanzen gut getrennt dargestellt.

Eichsubstanzen: Dodekanol p.p.a.
Hexandiol p.p.a.
Hexandion p.p.a.

3.3.2.5. Umesterung der Fette zu den Fettsäuremethylestern (5, 40)

Nachdem in den Kot- und Urinextrakten des Dodekan gemessen worden war, wurden die Extrakte mit 0,5 ml Methanol versetzt und das Dichlormethan, bzw. Äther bei 22°C am Rotationsverdampfer verdampft. Dann wurden weitere 0,5 ml Methanol, 200 µl Bortrifluorid-Methanol und 50 µl einer 2%igen Tridekansäurelösung in Methanol zugegeben, die Gläschen verschlossen und über Nacht in ein 50°C warmes Wasserbad gestellt. Am nächsten Tag wurde mit 1,0 ml eines Gemisches aus Pentan und Äther 1:1 und mit 0,2 ml eines Gemisches aus Pentan und Pyridin 1:1 versetzt, leicht zentrifugiert, der Überstand abgehoben, mit dem Pentan-Äther-Gemisch auf 1,5 ml eingestellt und chromatographiert.
Die Tridekansäure wird vollständig umgesetzt und dient als Standard für die Berechnung der C_{12}-, C_{14}- und C_{16}-Fettsäuremethylesterkonzentrationen durch Flächenvergleich

mit Hilfe des Integrators.

Chemikalien: Bortrifluorid-Methanol
Tridekansäurelösung 2% als Eichsubstanz
Pentan
Diäthyläther
Pyridin

Einstellung des Chromatographen für Tridekansäurebestimmung:
Säule SP 1000 auf Chromosorb G 80 - 100
Ofen 205°C, Injektor 220°C, Detektor 220°C
N_2 - Strom 30 l/min.

4. Ergebnisse

Da sich bei den Messungen herausstellte, daß die Ausscheidung in Abhängigkeit von der Zeit bei den mit niedrigen Dosen radioaktiv markierten, subkutan gespritzten Dodekans etwas anders verläuft als bei den mit höheren Dosen unmarkierten intraperitoneal gespritzten, teilten wir die Tiere in zwei Gruppen:
Gruppe I die Tiere 3, 4 und 5 (unmarkiertes Dodekan, intraperitoneal gespritzt)
Gruppe II die Tiere 1 und 2 (markiertes Dodekan, subkutan gespritzt).

Alle Ergebnisse werden für beide Gruppen getrennt dargestellt. Die unterschiedliche Ausscheidungskinetik ist auf die verschiedene Resorptionsgeschwindigkeit aus Bauchraum, bzw. Subkutangewebe zurückzuführen.

4.1. Ausatmungsluft

4.1.1. Unverändert abgeatmetes Dodekan in der Ausatmungsluft

Bei den Kontrolltieren fand sich kein Dodekan in der Ausatmungsluft. Von den Versuchstieren wurden in den ersten 96 Stunden an unverändertem Dodekan abgeatmet:

a) von den Tieren der Gruppe I:

Zeit (h)	abgeatmeter Anteil des gespritzten Dodekan (%)	
0-24	17,5	
24-48	4,3	s.Tab.1
48-96	0,6	s.Abb.2
insgesamt	22,4	

b) von den Tieren der Gruppe II:

Zeit (h)	abgeatmeter Anteil des gespritzten Dodekan (%)	
0-24	22,8	
24-48	1,8	s.Tab.1
48-96	0,6	s.Abb.3
insgesamt	25,2	

4.1.2. CO_2 in der Ausatmungsluft

Von den Tieren der Gruppe II wurden als markiertes CO_2 ausgeschieden (Markierung als ^{14}C):

Zeit (h)	als CO_2 abgeatmeter Anteil des gespritzten Dodekans (%)	
0-24	7,9	
24-48	1,4	s.Tab.1
48-96	0,8	s.Abb.3
insgesamt	10,1	

Wie aus Abb. 3 zu ersehen, überwiegt ab dem 3. Tag die Ausscheidung von markiertem CO_2 die des unveränderten Dodekans.

4.1.3. Andere Verbindungen in der Ausatmungsluft

a) Bei den Tieren der Gruppe I ließ sich bei der gaschromatographischen Untersuchung der Hexadekanproben auf Dodekanol, Hexandiol und Hexandion keine dieser Verbindungen nachweisen.
b) Auch bei den Tieren der Gruppe II ließ sich keine der genannten Verbindungen nachweisen. Darüberhinaus zeigte der Vergleich der durch gaschromatographische und szintillationszählende Untersuchung gewonnenen Werte für unverändertes Dodekan in den Hexadekanproben, die bei allen Proben fast genau übereinstimmten, daß diese Verbindungen, wenn überhaupt, dann nur in sehr kleinen Mengen ausgeschieden werden, wahrscheinlich aber überhaupt nicht.

Tabelle 1: Unverändert abgeatmetes Dodekan in der Ausatmungsluft aller Tiere
Markiertes CO_2 in der Ausatmungsluft der Tiere 1 und 2

Tier	Zeit	Dodekan µl ausgeschieden	% des insgesamt unverändert abgeatmeten	% des gespritzten	CO_2 µl ausgeschieden	% des abgeatmeten markierten CO_2	% des gespritzten Dodekans
1	24	15,2	91,6	25,3	3,6	75,0	6,0
	48	1,1	6,6	1,8	0,7	14,6	1,2
	96	0,3	1,8	0,5	0,5	10,4	0,8
	ges.	16,6	100,0	27,6	4,8	100,0	8,0
2	24	48,8	90,1	20,3	23,6	80,5	9,8
	48	4,3	8,0	1,8	3,6	12,3	1,5
	96	0,6	1,9	0,8	2,1	7,2	0,9
	ges.	53,7	100,0	22,9	29,3	100,0	12,2

Tabelle 1: Unverändert abgeatmetes Dodekan in der Ausatmungsluft aller Tiere
Markiertes CO_2 in der Ausatmungsluft der Tiere 1 und 2

Tier	Zeit	Dodekan µl ausgeschieden	% des insgesamt unverändert abgeatmeten	% des gespritzten
3	24	78,0	75,3	15,6
	48	22,0	21,2	4,4
	96	3,6	3,5	0,7
	ges.	103,6	100,0	20,7
4	24	151,5	79,4	15,1
	48	35,2	18,5	3,5
	96	4,1	2,1	0,4
	ges.	190,8	100,0	19,0
5	24	434,0	81,0	21,7
	48	100,3	18,7	5,0
	96	1,5	0,3	0,75
	ges.	535,8	100,0	27,5

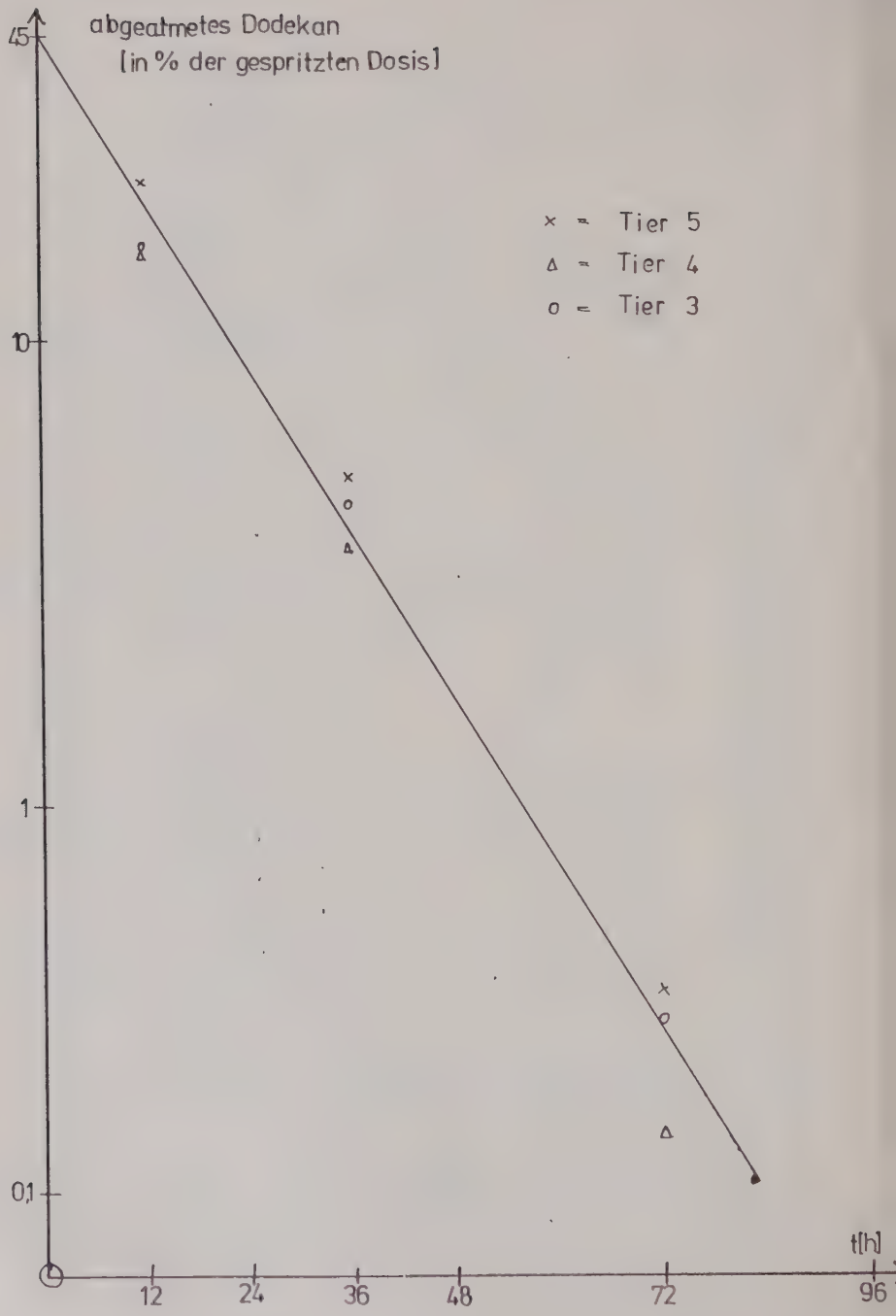


Abb.2: Unverändert abgeatmetes Dodekan in % der gespritzten Dosis bei den Tieren der Gruppe I

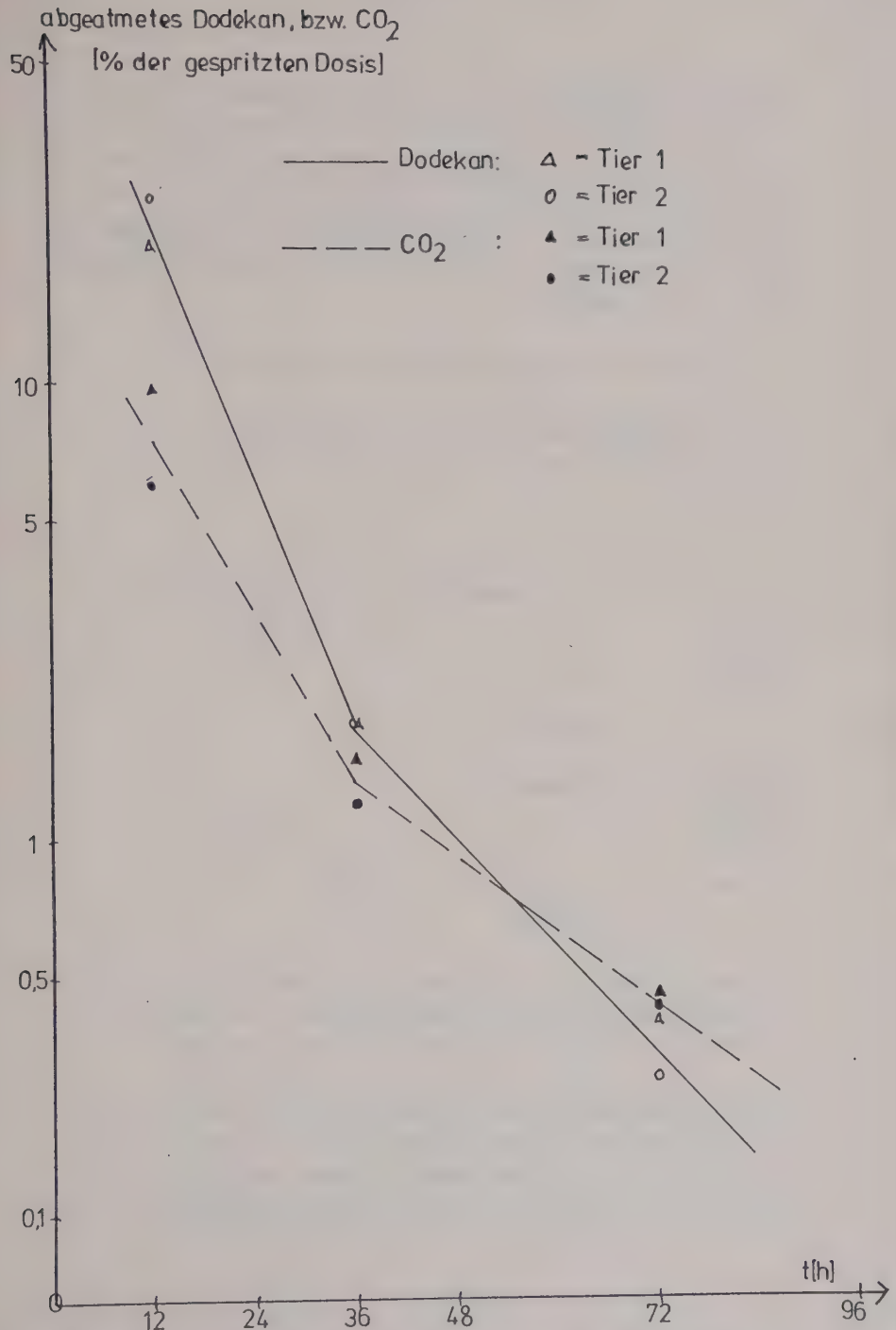


Abb.3: Unverändertes Dodekan und CO_2 in der Ausatmungsluft

4.2. Kot und Urin

4.2.1. Unverändert ausgeschiedenes Dodekan im Urin

Im Urin konnte durch Gaschromatographie bei keinem der Tiere, weder vor noch nach Verseifung, unverändertes Dodekan nachgewiesen werden.

4.2.2. Unverändert ausgeschiedenes Dodekan im Kot

Bei den Kontrolltieren fand sich kein Dodekan im Kot. Im Kot unverändert ausgeschieden wurden von den Tieren der Gruppe I

Zeit (h)	unverändert im Kot ausgeschiedener Anteil des gespritzten Dodekans (%)	
0-24	2,9	s.Tab.2
24-48	1,3	s.Abb.4
48-96	0,1	
insgesamt	4,3	

den Tieren der Gruppe II

0-24	0,6	s.Tab.2
24-48	0,3	s.Abb.4
48-96	0,03	
insgesamt	0,9	

In diesen Zahlen sind die gemessenen Werte vor und nach Verseifung der Kotproben zusammengefaßt. Zur genauen Aufteilung der Zahlen siehe Tabelle 2 und Abbildung 4.

Die Ausscheidung an unverändertem Dodekan nimmt dabei vor allem innerhalb der ersten 48 Stunden viel weniger schnell ab als die Ausscheidung über die Ausatmungsluft, was angesichts der Dauer der Darmpassage nicht verwundert. Die Eli-

mination als proteingelagerter Stoff, aus dem durch pH-Veränderung das Dodekan wieder freigesetzt werden kann, nimmt vom ersten zum zweiten Tag sogar noch zu.
Abb. 5 zeigt den Anteil des im Kot unverändert ausgeschiedenen Dodekans in den Extrakten vor und nach Versetzung mit Salzsäure.

Tabelle 2: Unverändert im Kot ausgeschiedenes Dodekan

Tier	Zeit	a) vor der Verseifung Menge (µl)	b) nach der Verseifung Menge (µl)	c) insgesamt Menge (µl)
1	24	0,14	0,04	0,18
	48	0,04	0,11	0,15
	96	0,005	0,02	0,03
		0,19	0,17	0,36
2	24	2,0	0,10	2,10
	48	0,55	0,25	0,80
	96	0,02	0,03	0,05
		2,57	0,38	2,95
3	24	11,55	1,67	13,22
	48	0,28	0,45	0,73
	96	0,42	0,10	0,52
		12,25	2,22	14,47
4	24	31,30	3,10	34,40
	48	5,80	9,50	15,30
	96	0,02	0,04	0,06
		37,12	12,64	49,74
5	24	51,82	2,60	54,42
	48	24,98	18,80	43,78
	96	1,70	1,58	3,28
		78,50	22,98	101,48

Tabelle 2: Unverändert im Kot ausgeschiedenes Dodekan

Tier	Zeit	Anteil am im Kot ausgeschiedenen Dodekan (%)	Anteil am gespritzten Dodekan (%)
1	24	50,6	0,30
	48	42,1	0,25
	96	7,3	0,04
		100,0	0,59
2	24	71,2	0,88
	48	27,1	0,33
	96	1,7	0,02
		100,0	1,23
3	24	91,4	2,65
	48	5,0	0,15
	96	3,6	0,10
		100,0	2,90
4	24	69,2	3,44
	48	30,7	1,53
	96	0,1	0,01
		100,0	4,98
5	24	53,6	2,72
	48	43,1	2,16
	96	3,3	0,17
		100,0	5,05

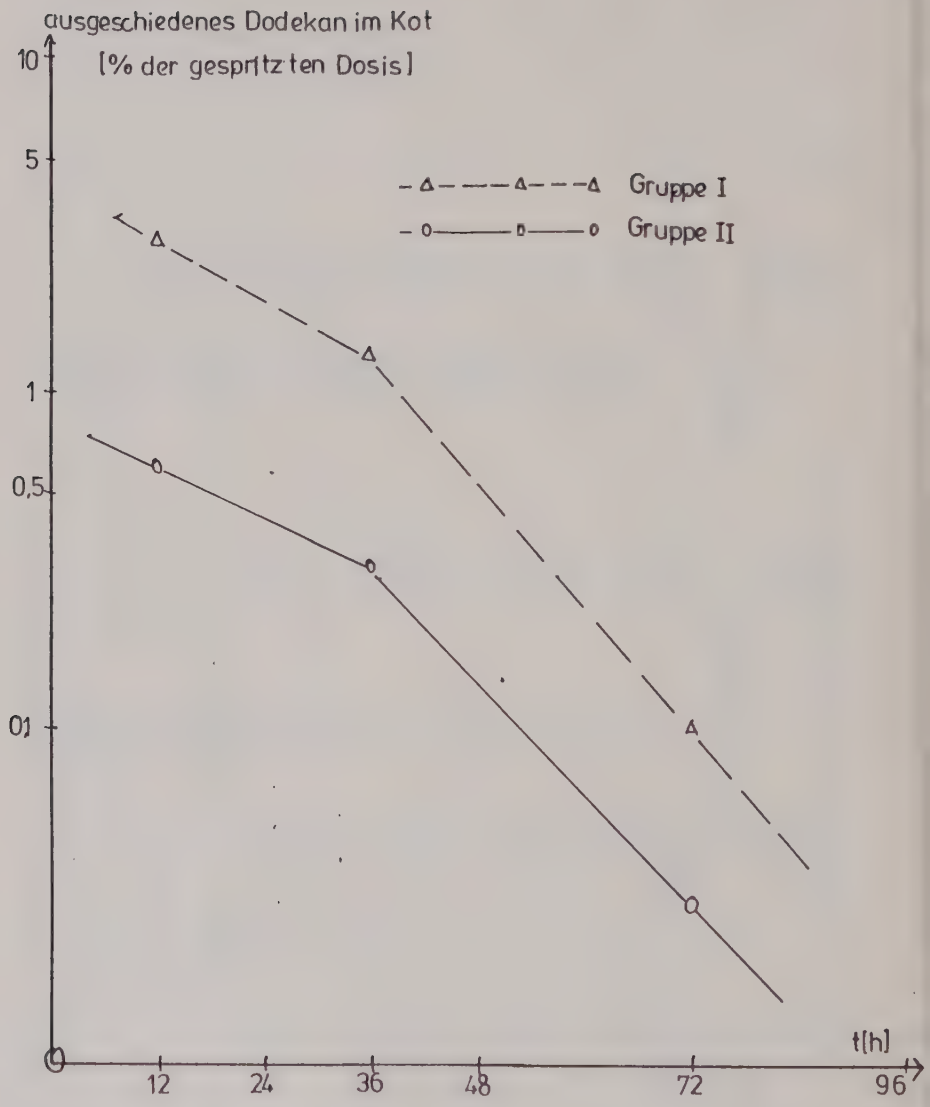
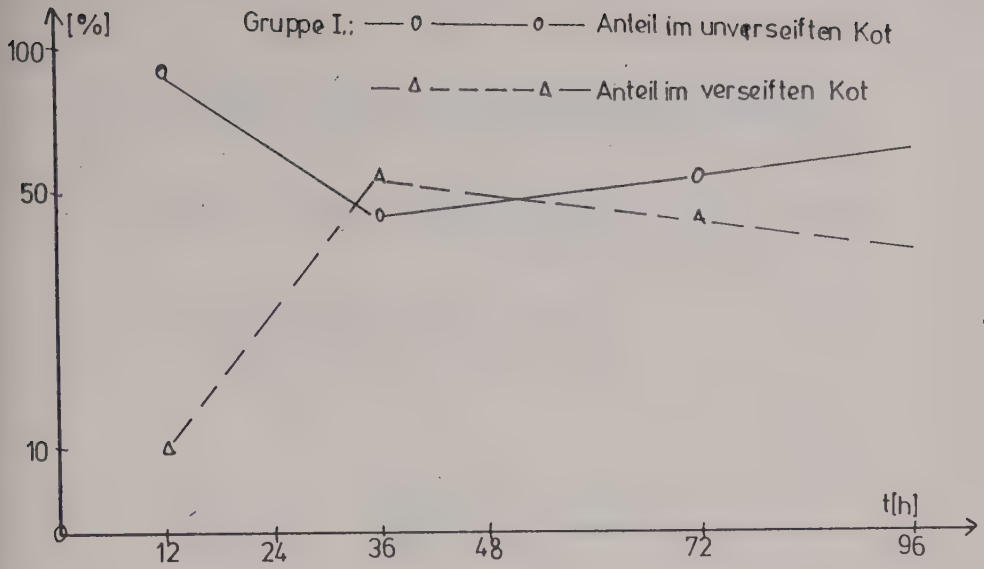


Abb.4: Unverändert ausgeschiedenes Dodekan im Kot bei den Tieren der Gruppen I und II



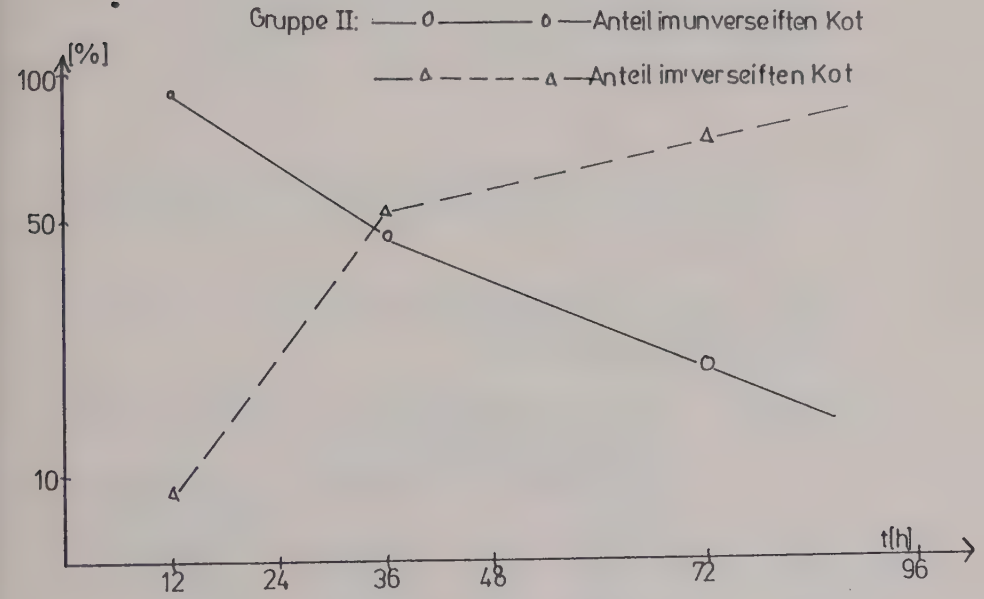


Abb.5: Verteilung des unverändert ausgeschiedenen Dodekans im unverseiften und verseiften Kot (in % des unverändert im Kot ausgeschiedenen Dodekans) bei den Tieren der Gruppen I und II

4.2.3. Aktivitätsausscheidung im Urin der Tiere der Gruppe II

Von der gespritzten Aktivitätsmenge werden im Urin der Tiere der Gruppe II wiedergefunden:

Zeit (h)	im Urin ausgeschiedener Anteil der verabreichten Aktivitätsmenge (%)
0-24	0,23
24-48	0,03
48-96	0,02
insgesamt	0,28

Gaschromatographisch konnte, wie oben schon gesagt, bei keinem der Tiere unverändertes Dodekan nachgewiesen werden. Es wird also eine geringe Menge (0,3 %) an Stoffwechselprodukten des Dodekans über die Nieren ausgeschieden.

4.2.4. Aktivitätsausscheidung im Kot der Tiere der Gruppe II im Vergleich zur Ausscheidung von unverändertem Dodekan

Von der gespritzten Aktivitätsmenge wurden im Kot der Tiere der Gruppe II wiedergefunden:

Zeit (h)	im Kot ausgeschiedener Anteil der verabreichten Aktivitätsmenge (%) als:		
	unverändertes Dodekan	insgesamt	andere Verbindungen
0-24	0,60	1,20	0,60
24-48	0,30	0,48	0,18
48-96	0,03	0,23	0,20
insgesamt	0,93	1,91	0,98

In diesen Zahlen sind die gemessenen Werte vor und nach Verseifung zusammengefaßt. Zur genaueren Aufteilung siehe Tabelle 3.

Tabelle 3: Aktivitätsausscheidung im Kot der Tiere der Gruppe II:

Tier	Zeit	ausgeschiedene Menge (µl) a) vor Verseifung	b) nach Verseifung	C) insgesamt	Anteil am gespritzten Dodekan (%)
1	0-24	0,26	0,09	0,35	0,58
	24-48	0,11	0,07	0,18	0,30
	48-96	0,02	0,02	0,04	0,07
		0,39	0,18	0,57	0,95
2	0-24	4,07	0,29	4,36	1,82
	24-48	1.14	0,41	1,55	0,65
	48-96	0,36	0,57	0,93	0,39
		5,57	1,27	6,84	2,86

4.2.5. Versuch zur Identifizierung anderer Verbindungen im Kot und Urin

Auch im Kot und Urin versuchten wir gaschromatographisch mit Hilfe von Referenzsubstanzen die möglicherweise zu erwartenden Stoffwechselzwischenprodukte Dodekanol, Hexandiol und Hexandion nachzuweisen. Es war in keiner Probe eine dieser Substanzen vorhanden.

4.2.6. Ausscheidung bestimmter Fettsäuren im Kot und Urin

Tuliez und Borries (42) verabreichten Ratten radioaktiv markiertes Heptadekan im Futter und fanden später einen erheblichen Teil in Fettsäuren, vor allem der Heptadekansäure, aber auch in anderen Lipiden, eingebaut. Aufgrund dieser Ergebnisse bestimmten wir die Ausscheidung der gesättigten C_{12}-, C_{14} - und C_{16} - Fettsäuren im Kot und Urin, um bei eventuellen Veränderungen Rückschlüsse auch auf das Stoffwechselverhalten des Dodekan, z.B. seine Oxidation zur Laurylsäure, ziehen zu können. Da der absolute Gehalt an Fettsäuren in Kot und Urin von Art und Menge der Nahrung und vom Stoffwechsel abhängt, bildeten wir die Verhältnisse der Fettsäuremethylester der gesättigten C_{12}-, C_{14}- und C_{16}- Fettsäuren zueinander und verglichen sie mit dem Nullwert, einem Durchschnittswert aus den Bestimmungen bei fünf Tieren, die unter gleichen Bedingungen, aber ohne Dodekangabe gehalten worden waren. Das Verhältnis der Methylester der Tetra- und Hexadekansäure wich bei den mit Dodekan gespritzten Tieren nicht signifikant vom Nullwert ab, bei den Quotienten C_{12}/C_{14} - FSME und C_{12}/C_{16} - FSME (Fettsäuremethylester) fand sich eine deutliche Erhöhung in den Kotextrakten vor der Verseifung, wobei bei den Referenztieren in diesen Extrakten überhaupt keine Laurylsäureester vorkommen. Bei den Tieren der Gruppe I war der relative

C_{12} - FSME - Gehalt außerdem in den Kotextrakten nach Verseifung und in den Urinextrakten nach Verseifung erhöht. Bei den Tieren der Gruppe II war die gespritzte Dosis wohl zu niedrig, um gaschromatographisch Veränderungen nachweisen zu können. In den Urinextrakten vor Verseifung fanden sich bei keinem der Tiere Laurylsäureester. (s.Tab. 4-7)

Tab. 4 Fettsäuremethylester in Kot und Urin der Kontrolltiere (Bestimmung in 5 g Kot, bzw. 5 ml Urin; jeweils Werte für die einzelnen Kontrolltiere)

	C_{12} - FSME (µl)	$\frac{C_{12}}{C_{14}}$ - FSME	$\frac{C_{12}}{C_{16}}$ - FSME	$\frac{C_{14}}{C_{16}}$ - FSME
unverseifter Kot	kein C_{12} nachweisbar	-	-	0,05 0,04 0,06 0,05 0,03 Ø 0,05
verseifter Kot	0,041 0,043 0,014 0,012 0,080 Ø 0,038	0,81 0,65 0,26 0,25 0,51 Ø 0,50	0,01 0,04 0,02 0,01 0,02 Ø 0,02	0,01 0,06 0,08 0,04 0,04 Ø 0,05

= 7,60 nl/g Kot

Tab. 4 Fettsäuremethylester in Kot und Urin der Kontrolltiere (Bestimmung in 5 g Kot, bzw. 5 ml Urin; jeweils Werte für die einzelnen Kontrolltiere)

	C_{12} - FSME (µl)	$\frac{C_{12}}{C_{14}}$ - FSME	$\frac{C_{12}}{C_{16}}$ - FSME	$\frac{C_{14}}{C_{16}}$ - FSME
unverseifter Urin	kein C_{12} nachweisbar	-	-	2,38 0,34 0,68 1,02 0,60 Ø 1,21
verseifter Urin	0,090 0,102 0,073 0,020 0,135 Ø 0,08ul	1,61 1,92 3,25 2,50 1,67 Ø 2,79	1,01 2,27 6,67 1,54 1,69 Ø 2,63	0,63 1,18 1,07 0,62 1,01 Ø 0,90

= 16 nl/ml Urin

Tab. 5 Fettsäuremethylester im Kot der Versuchstiere

Ratte Nr.:	1			2			3			4			5			Kontroll-
Zeit (h)	24	48	96	24	48	96	24	48	96	24	48	96	24	48	96	tiere
a) vor Verseifung																
C_{12}/C_{14}	0,86	0,23	-	0,85	0,15	-	1.30	0,11	0,05	2,17	0,07	-	1,45	0,14	0,08	-
C_{12}/C_{16}	0,07	0,02	-	0,03	0,005	-	0,07	0,007	0,003	0,25	0,006	-	0,13	0,02	0,005	-
C_{14}/C_{16}	0,08	0,09	0,05	0,04	0,03	0,04	0,05	0,06	0,06	0,12	0,09	0,08	0,09	0,14	0,06	0,05
C_{12}/g Kot (nl)	3,4	1,5	-	1,2	0,9	-	41,2	1,2	0,42	32,4	1,5	-	66,8	2,8	0,76	-
b) nach Verseifung																
C_{12}/C_{14}	0,52	0,20	0,22	0,26	0,13	0,97	1,03	0,63	0,65	1,20	0,68	0,26	1,26	0,72	0,21	0,50
C_{12}/C_{16}	0,04	0,02	0,02	0,03	0,02	0,05	0,05	0,04	0,05	0,08	0,03	0,01	0,10	0,14	0,02	0,02
C_{14}/C_{16}	0,08	0,10	0,11	0,12	0,15	0,05	0,05	0,06	0,08	0,07	0,04	0,04	0,08	0,14	0,10	0,05
C_{12}/g Kot (nl)	6,4	4,5	8,9	8,5	2,3	7,8	51,2	20,0	12,3	249,4	34,8	8,6	368,7	41,9	11,0	7,60
C_{12}/gKot insgesamt (nl)	9,8	6,0	8,9	9,7	3,2	7,8	92,4	21,2	12,7	281,8	36,4	8,6	435,5	44,7	11,8	7,60
C_{12}/ Kot insgesamt (µl)	0,09	0,05	0,7	0,07	0,03	0,14	0,86	0,25	0,23	2,18	0,26	0,19	5,32	0,36	0,24	0,054

Tab. 6 Fettsäuremethylester im Urin der Versuchstiere

Ratte Nr.	1			2			3			4			5			
Zeit (h)	24	48	96	24	48	96	24	48	96	24	48	96	24	48	96	Kontroll-tiere
a) vor Verseifung																
C_{12}/C_{14}	Kein C_{12}		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C_{12}/C_{16}	nachweisbar															
C_{14}/C_{16}	0,54	1,35	0,42	1,41	0,67	0,34	2,86	1,87	0,96	1,01	1,47	0,98	0,78	0,93	0,91	1,21
C_{12}/ml Urin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b) nach Verseifung																
C_{12}/C_{14}	0,49	1,45	0,44	0,31	0,11	3,68	5,56	3,85	5,56	3,45	2,7o	4,76	2,75	2,61	3,68	2,19
C_{12}/C_{16}	0,89	2,86	0,72	0,18	0,53	1,79	4,55	2,08	6,67	4,35	3,23	5,26	3,41	2,55	4,09	2,63
C_{14}/C_{16}	1,86	1,97	1,64	0,58	4,82	0,54	0,82	0,54	1,20	1,26	1,20	1,11	1,24	0,98	1,11	0.90
C_{12}/ml Urin (nl)	7,8	5,2	3,5	7,2	6,3	8,0	41,4	23,8	37,5	97,5	124,1	132,0	121,3	103,4	185,7	16,0
C_{12}/Urin insgesamt (µl)	0,04	0,03	0,04	0,05	0,04	0,08	0,19	0,10	0,44	0,54	0,76	0,98	0,62	0,57	1,51	0,038

Tab. 7 Als Laurylsäure in Kot und Urin ausgeschiedener Anteil der verabreichten Dodekanmenge (Blindwert abgezogen)

Tier Nr.	Kot (µl)	Urin (µl)	insgesamt (µl)	% der verabreichten Dodekanmenge
1	0,03	-	0,03	0,05 %
2	0,02	-	0,02	0,01 %
3	1,124	0,578	1,702	0,34 %
4	2,414	2,128	4,542	0,45 %
5	5,704	2,548	8,252	0,41 %

4.3. Verbleib des gespritzten Dodekan und Wiederfinderate in den Ausscheidungen der ersten 96 Stunden

Wie zu erwarten war und auch schon aus der Arbeit von A. Zorn (49) hervorgeht, wird in den ersten vier Tagen nach Verabreichung nicht das gesamte Dodekan wieder ausgeschieden. Dort wurde eine wochenlange Speicherung von Dodekan bzw. Stoffwechselprodukte in bestimmten Organen, in erster Linie in Leber, Lunge, Herz und Gehirn festgestellt. Außerdem konnten wir bei den Tieren der Gruppe I die Ausscheidung als CO_2 oder andere Stoffwechselprodukte nicht verfolgen, da diese CO_2 - Menge in der physiologischen CO_2- Abatmung quantitativ unbedeutend ist und nur die im Metabolismus zu erwartenden Stoffe geprüft werden konnten.

4.3.1. Wiedergefundener Anteil des verabreichten markierten Dodekans bei den Tieren der Gruppe II

Tier Nr.	Ausatmungsluft als Dodekan	Ausatmungsluft als CO_2	Kot	Urin	insgesamt
1	27,6	8,0	0,95	0,25	36,8
2	22,9	12,2	2,86	0,31	38,3

s.Abb.6 und 7

4.3.2. Wiedergefundener Anteil des verabreichten Dodekans bei den Tieren der Gruppe I.

Ausgeschiedener Anteil in % des gespritzten Dodekans in:

Tier Nr.	Ausatmungsluft unverändert	Kot unverändert	Kot als Fettsäure
3	20,70	2,90	0,23
4	19,00	4,98	0,24
5	27,50	5,05	0,29

	Urin unverändert	Urin als Fettsäure	insgesamt
3	-	0,11	23,94
4	-	0,21	24,43
5	-	0,12	32,96

s.Abb. 6 und 7

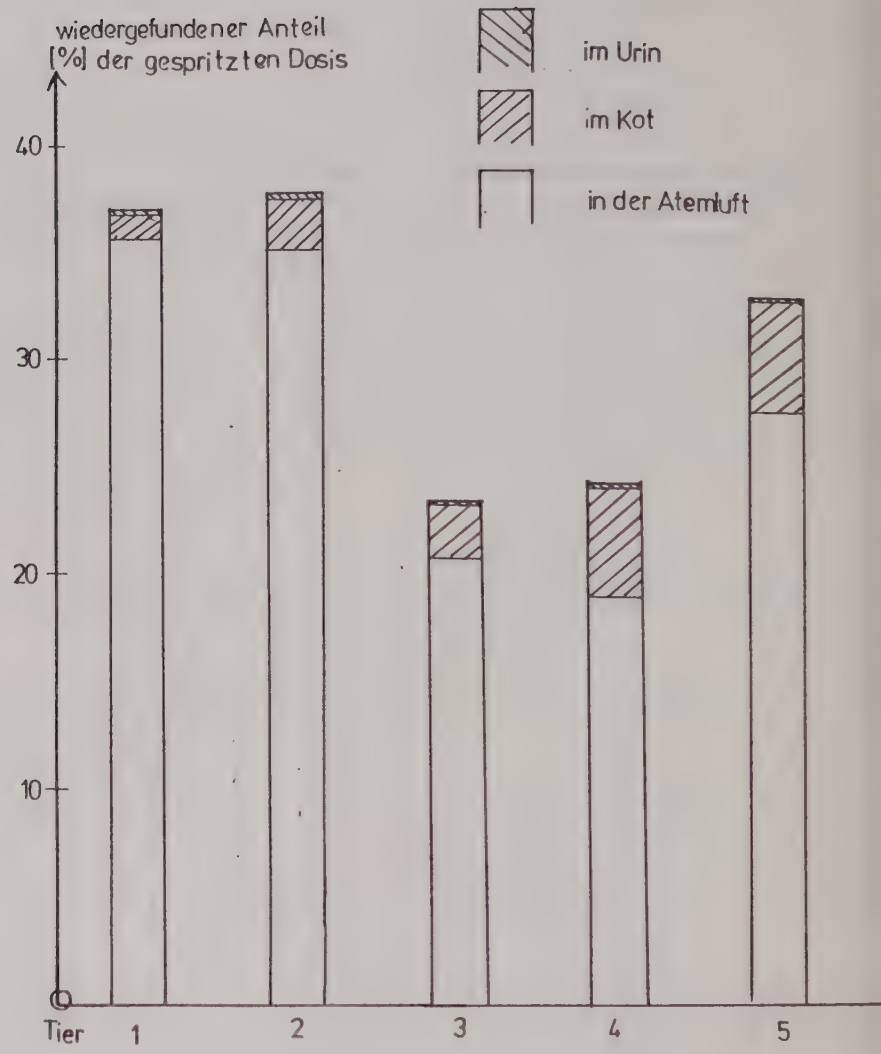


Abb. 6: Insgesamt wiedergefundener Anteil (in % der verabreichten Dosis) bei allen Tieren

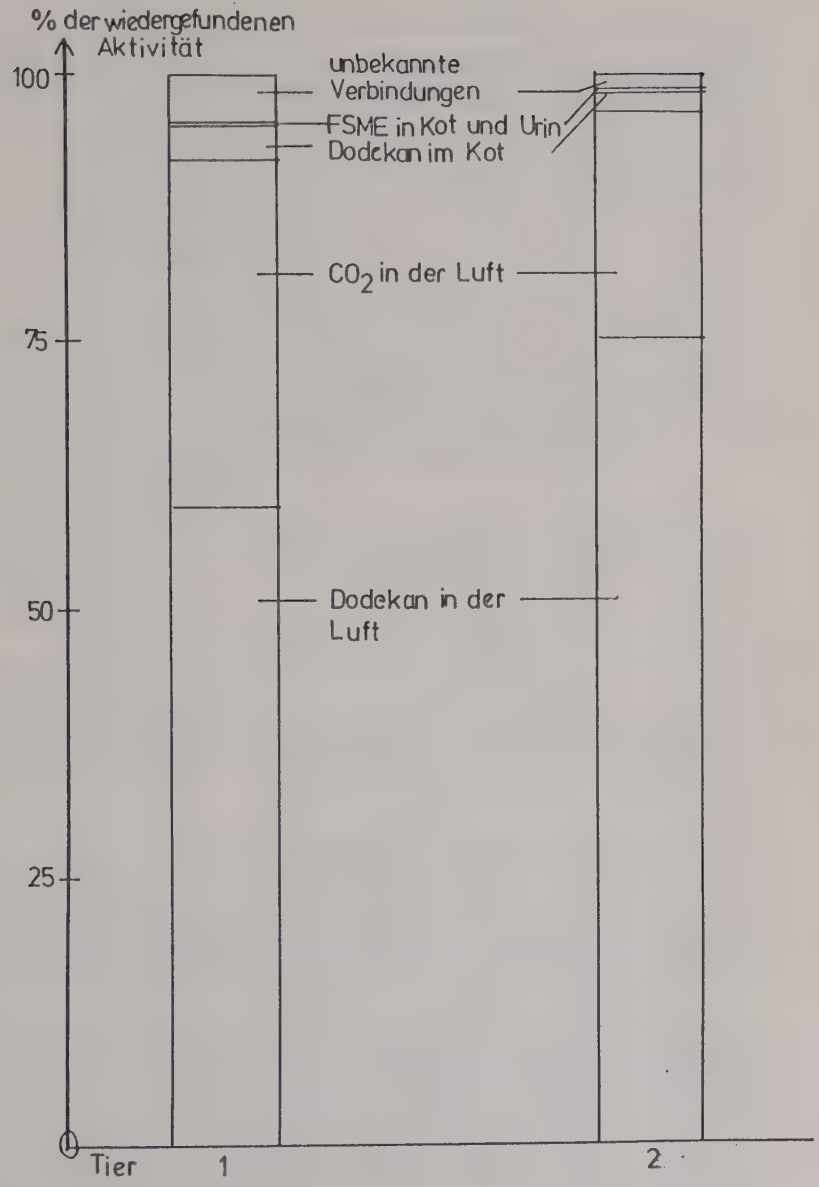


Abb. 7: Prozentuale Verteilung der wiedergefundenen Aktivität bei den Tieren der Gruppe II

5. Auswertung der Versuchsergebnisse

Die Ergebnisse der Versuche zeigten, daß das lange Zeit für physiologisch inert gehaltene Dodekan bei der Ratte im Organismus bestimmten Stoffwechselreaktionen unterliegt.
Es ist bei den nachstehend dargestellten Ergebnissen immer zu beachten, daß sie an Ratten gewonnen wurden und deshalb nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragbar, und daß sie auf Grund der geringen Zahl der eingesetzten Versuchstiere nur als Anhaltspunkt ohne statistische Absicherung zu betrachten sind.

5. 1 Überwachung der Schadstoffaufnahme durch Messung der Schadstoffkonzentration in der Ausatmungsluft

In den Versuchen von Zorn (49) hat sich herausgestellt, daß sich bei dem Aufenthalt von Ratten in einer Dodekanatmosphäre unterschiedlicher Konzentration verhältnismäßig schnell ein Gleichgewichtszustand zwischen der Dodekankonzentration in der Ein- und Ausatmungsluft einstellt (s.a. 37). Die Messung kann bei Erreichen dieses Gleichgewichtszustandes begonnen werden, da ab dann die Ausscheidung bei Beendigung der Zufuhr zuerst maßgeblich von der Konstanten einer Exponentialfunktion 1. Ordnung bestimmt wird.
Zunächst einmal wird ein erheblicher Teil des verabreichten Dodekans (etwa ein Viertel) unverändert über die Lunge ausgeschieden. Die Ausscheidung ist in den ersten Stunden am größten und nimmt dann sehr schnell ab. Diese Tatsache böte theoretisch die Möglichkeit, über die Messung der Konzenteation des Dodekans in der Ausatmungsluft über eine bestimmte Zeit unmittelbar nach Expositionsende in einer ölnebelhaltigen Umgebung auf die tatsächlich aufgenommene Menge zurückzuschließen, was mit anderen Verfahren nur zu unzulänglichen Resultaten führt. Da man die Ausscheidungskinetik wenigstens in den ersten 72 bis 96 Stunden nach der Exposition durch eine Exponentialfunktion 1. Ordnung beschreiben kann, läßt sie sich folgendermaßen ausdrücken:

$$A = A_o \cdot e^{-k_{21}t}$$

Dabei bedeuten

A die "Abatmungsgröße", d.h. denjenigen Anteil am gespritzden Dodekan, den die Ratte in 24 h abatmen würde, wenn die Dodekankonzentration in der Atemluft solange auf dem jetzigen Wert bliebe;

A_o die"Abatmungsgröße" zur Zeit t_o, d.h. unmittelbar nach Expositionsende, bzw. nach Erreichen des Gleichgewichtszustandes

k_{21} die Eliminationskonstante 21

t die Zeit in Stunden nach Expositionsende.

Der Betrag von A_o ergibt sich aus der Abbildung 2 zu 0,45. Die Konstante k läßt sich entweder aus der Steigung der Geraden oder durch $k = \frac{\ln 2}{T\ 1/2}$ bestimmen, in beiden Fällen ergibt sich hier
$k = 0{,}07$.

Will man die Ausscheidung in einem bestimmten Zeitintervall berechnen, so ist

$A\ (\Delta t) = \frac{1}{2}\ (A_o \cdot e^{-k_{21}t_1} - A_o e^{-k_{21}t_2})$, wobei t in Stunden anzugeben ist.

Für die Zeit von 0 bis 12 Minuten nach Expositionsende ergibt sich zum Beispiel

$$A\ (0\text{-}12\text{min}) = \frac{1}{2}\ (0{,}45 \cdot e^{-0{,}07 \cdot 0} - A_o \cdot e^{-0{,}07 \cdot 0{,}2}) =$$

$$= \frac{1}{2}\ (0{,}45 - 0{,}442) = 0{,}004,$$

d.h. in den ersten zwölf Minuten nach Expositionsende werden 0,4 % des aufgenommenen Dodekans wieder unverändert abgeatmet.

Unsere Versuche legen prinzipiell die dargestellte Ausscheidungsfunktion nahe. Zur genauen Bestimmung der zahlenmäßigen Beziehung sind weitere Versuche notwendig, die eine statistische Auswertung erlauben.

5.2. Ergebnisse der Untersuchung zum Dodekanstoffwechsel

Betrachtet man den Verbleib des aufgenommenen Dodekans und die Veränderungen, denen es im Körper unterliegt, so ergibt sich folgendes Bild:

5.2.1. Ein nicht unerheblicher Teil (ca. 3o%) des verabreichten Dodekans wird unverändert wieder ausgeschieden. Über die Atemwege werden davon rund 8o% - 9o% eliminiert. Der Rest erscheint im Kot, wobei dieser Anteil von der verabreichten Dosis abhängt und mit ihr ansteigt.

Dabei nimmt die Ausscheidungsgeschwindigkeit im Kot wesentlich weniger schnell ab als über die Ausatmungsluft, was man auf die längere Dauer der Darmpassage und Speicherungsvorgänge im Fettgewebe zurückführen muß (vgl. Tab. 2 und Abb. 4). Die Elimination als proteinangelagerte oder in andere Stoffe eingeschlossene Verbindung nimmt entsprechend dem Metabolismus vom ersten zum zweiten Tag zu und übersteigt dann diejenige des Dodekans selbst (s.Abb.5).

Interessant ist ein Vergleich des von den Tieren der Gruppe I im Kot ausgeschiedenen unveränderten Dodekananteils mit der gesamten im Kot nachweisbaren Aktivität. Es zeigt sich, daß in den ersten 24 Stunden genau so viel Dodekan-Metabolite wie Dodekan eliminiert werden, der Anteil jener später aber immer mehr überwiegt (s.4.2.4. und Tab. 3). Welche Verbindungen das im einzelnen sind, konnten wir nicht vollständig nachweisen; vermutlich sind es fettlösliche Substanzen, die in der Leber teilweise verstoffwechselt werden und dann an Gallensäuren gebunden in das Darmlumen abgegeben und dort freigesetzt werden, so daß sie schon vor der Verseifung des Kots als unkonjungierte Verbindungen nachgewiesen werden können. Ein kleinerer Teil, der allerdings mit der Zeit ständig zunimmt, erscheint als konjungierte Verbindungen im Kot.

5.2.2. Im Urin läßt sich chromatographisch kein Dodekan oder eines der von uns vermuteten Stoffwechselzwischenprodukte nachweisen, jedoch findet sich bei den Tieren der Gruppe II eine geringe Menge (ca. o,3 %) der aufgenommenen Aktivität

dort wieder. Dies könnten entweder Glucuronsäureverbindungen oder Bikarbonat aus dem entstehenden CO_2 sein. Im ganzen betrachtet spielt dieser Weg bei der Elimination aber nur eine untergeordnete Rolle.

5.2.3. Der Nachweis von radioaktiv markiertem CO_2 bestätigt eine vollständige Verstoffwechselung eines Teils des markierten Dodekans.

Der Anteil der als CO_2 ausgeschiedenen an der insgesamt verabreichten Radioaktivitätsmenge liegt bei etwa 1o %. Dabei überwiegt er ab dem 2. Tag den als unverändertes Dodekan ausgeschiedenen Anteil. Der verhältnismäßig niedrig erscheinende Wert des gemessenen radioaktiven CO_2 erklärt sich daraus, daß ein Teil des parenteral verabreichten markierten Dodekans nicht vollständig zu CO_2 abgebaut, vielmehr im Stoffwechsel zum Aufbau anderer Verbindungen verwandt oder als Fett gespeichert wird und somit im Körper zurückbleibt. Diese Restaktivität wurde hier nicht bestimmt.

5.2.4. Als weiterer Anhaltspunkt für den Stoffwechselweg des Dodekans im Körper wurde die Ausscheidung der Laurylsäure im Kot bestimmt, deren Ansteigen nach Dodekangabe als Indiz für eine Oxidation am terminalen C-Atom im Organismus gewertet werden kann. Die Verhältnisse sind deswegen nicht so eindeutig, weil es unter Umständen sein kann, daß die Mikroorganismen des Magen-Darm-Traktes dorthin gelangtes Dodekan umwandeln und die Laurylsäure aus ihrem und nicht aus dem Stoffwechsel der Versuchstiere stammt. Allerdings ist es so, daß die Darmflora zu 9o - 95% aus Anaerobiern besteht, also nur sehr wenige Aerobier, dazu fast ausschließlich im Dickdarm, vorkommen, die allein die Enzymausstattung für derartige Oxidationsreaktionen besitzen. Außerdem ist durchaus noch nicht geklärt, ob alle, oder gegebenenfalls welche, der aerob lebenden Mikroorganismen zu derartigen Stoffwechselleistungen fähig sind.

Eine Erhöhung der Laurylsäureausscheidung zeigte sich bei allen Tieren im Kot vor der Verseifung, wobei in diesen Pro-

ben bei den Vergleichstieren überhaupt keine Laurylsäure vorkommt, bei den Tieren der Gruppe I im Kot nach der Verseifung in den ersten 24 Stunden und im Urin nach der Verseifung (s. Tab. 5 - 7).

Bei den Tieren der Gruppe I war die verabreichte Dosis wohl zu gering, um chromatographisch noch eine erhöhte Laurylsäureausscheidung nachzuweisen.
Der Betrag des applizierten Dodekans, der auf diese Weise eliminiert wird, liegt zwischen unter 1 % für die Tiere der Gruppe II und 3 - 5% für die Tiere der Gruppe I (s.Tab. 7).

6. Diskussion der Versuchsergebnisse

Über die Schadwirkung von Mineralölnebeln bestehen heute noch verbreitete Meinungsverschiedenheiten. Unbestritten ist sicher ein schädigender Einfluß auf die Lunge (interstitielle Pneumonie bis zur Lungenfibrose) und auf die Haut (Ölakne, Skrotalkarzinom bei Bitumarbeitern). Weitgehend ungeklärt ist, welche Stoffe ab welcher Dosis welche Schädigungen verursachen. Ein MAK-Wert existiert in der Bundesrepublik wegen der Kanzerogenität einzelner im Mineralöl vorhandener Verbindungen und wegen der chemisch nicht einheitlich definierten Mischung verschiedener Stoffe nicht mehr. Messungen der Konzentration der Mineralölnebel an exponierten Arbeitsplätzen zeigen außerdem, daß der Wert von 5 mg/m^3, wie er z.B. in den USA und einigen Ostblockländern als Maximalwert der Konzentration am Arbeitsplatz zugelassen ist, in vielen Betrieben weit überschritten wird.Außerdem ist es bisher unmöglich, von der Raumluftkonzentration auf die tatsächliche Aufnahme der Schadstoffe in den Körper zu schließen, da diese von der Verteilung der Tröpfchengröße abhängt.
Darüber hinaus stellt Mineralöl ein Gemisch aus verschiedenen, im einzelnen noch nicht einmal genau bekannten chemischen Verbindungen dar, die zudem in den einzelnen industriellen Ölen in jeweils verschiedenen Anteilen vorkommen.

Voraussetzung für eine zuverlässige Beurteilung der gesundheitsschädigenden Wirkung ist die Kenntnis des Resorptionsverhaltens, Stoffwechsel - und Ausscheidungsweges jeder einzelnen in einem Gemisch enthaltenen chemischen Verbindung.

In der vorliegenden Arbeit haben wir stellvertretend für die aliphatischen Kohlenwasserstoffe das Dodekan untersucht, das zu den leichter flüchtigen unter den im Mineralöl vorkommenden Aliphaten gehört. Es zeigt sich, daß bei Ratten ein Anteil von etwa einem Viertel des aufgenommenen Dodekans wieder unverändert abgeatmet wird. Es wäre zu prüfen,ob es sich beim Menschen genauso verhält, da dann bei Kenntnis der genauen Abatmungskinetik durch Messung der Abatmungsmenge über einen gewissen Zeitraum die Zurückrechnung auf die insgesamt aufgenommene Menge möglich wäre. Dies böte eine verhältnismäßg einfache und praktikable Möglichkeit zur Bestimmung der Schadstoffaufnahme am ölnebelexponierten Arbeitsplatz.
Da die Abatmungskinetik in erster Linie von physikalischen Daten abhängt und damit eine Analogie bei Ratten und Menschen wahrscheinlich ist, ist zu vermuten, daß nicht nur niedrigsiedende aliphatische Kohlenwasserstoffe, wie die von Römmelt und Dirnagl (37) untersuchten Verbindungen Pentan, Hexan und Heptan sowie die aromatischen Verbindungen, sondern auch höhersiedende Aliphate unverändert über die Atemwege wieder ausgeschieden werden. Mit geeigneten Meßvorrichtungen könnte eventuell auf die tatsächlich aufgenommene Menge der Schadstoffe zurückgeschlossen werden, die nicht nur von der Konzentration in der Raumluft, sondern auch von der Tröpfchengröße in den Aerosolen abhängt. Zu klären bleibt natürlich vorher, ob und inwieweit die an Ratten gewonnenen Ergebnisse tatsächlich auf Menschen übertragen werden können. Außerdem müßte die genaue Ausscheidungskinetik anhand von Untersuchungen an einer größeren Zahl von Personen bestimmt werden,um statistisch verwertbar zu sein. Aus unseren Versuchen ergeben sich Hinweise, daß ein solcher Weg Erfolg versprechen könnte und in welcher Richtung man ihn weiter gehen müßte.

Welche Aussagen zum Stoffwechselweg lassen sich nun auf Grund

der Literaturangaben und unseren Ergebnissen machen? Die Verstoffwechslung von Alkanen durch Mikroorganismen ist schon früher beschrieben worden (8,12,13,16,18, 24,32,36). Dabei kommt es zu einer Oxidation der Alkane zur entsprechenden Fettsäure und anschließenden Abbau zum Acetat, wobei die Stoffwechselrate derjenigen Organismen, die vorher auf einem das entsprechende Alkan enthaltenden Nährboden kultiviert worden waren, wesentlich höher war als bei anderen, die mit dieser Verbindung vorher nie in Kontakt kamen. Bei ersteren fand also eine Enzyminduktion statt, die von Kawamoto et al (21) in einer auf n-Alkanen gewachsenen Hefe, Candida tropicalis, durch Bestimmung einzelner Enzyme, die bei der Alkanoxidation eine Rolle spielen, nachgewiesen werden konnte.

Daß auch Säugetiere Alkane verwerten können, bewiesen Tulliez und Borries(42), die Ratten radioaktiv markiertes Heptadekan im Futter verabreichten. Sie fanden die Aktivität in verschiedenen Fettsäuren eingebaut wieder und schlossen daraus, daß das Heptadekan zur Heptadekansäure oxidiert wird, dann die ß-Oxidation der Fettsäuren durchläuft und entweder bis zu CO_2 und H_2O abgebaut wird, oder einzelne Bruchstücke wieder in andere Fettsäuren eingebaut werden. Die radioaktiven C-Atome lassen sich so in verschiedenen Lipiden im ganzen Körper nachweisen.
Der Stoffwechselweg des Dodekan bei Ratten könnte folgendermaßen aussehen : Die Aufnahme lipophiler Substanzen aus dem Darmlumen geschieht entweder über direkte Aufnahme durch die Epithelzellen in das Blutgefäßsystem oder über den Lymphweg. Die erste Reaktion im Organismus, die Oxidation der Alkane am terminalen Kohlenstoffatom zum entsprechenden Alkohol, findet wahrscheinlich in den Lebermikrosomen statt. Sie wird, zumindest bei Bakterien, von der Alkanoxydase, einem Enzymsystem, dessen letztes Glied das Cytochrom P 45o darstellt, katalysiert. Dieses Cytochrom unterliegt einer Induktion durch zahlreiche Substanzen. Die Induzierbarkeit der Alkanstoffwechselung, d.h. deren Beschleunigung bei vorher auf entsprechenden Nährböden gewachsenen Mikroorganismen spricht dafür, daß dieser erste Schritt zu-

gleich der limitierende der ganzen Reaktionskette ist. Da diese Kette durch die Oxidationsreaktion in Gang gekommen ist, kann sie auf bisher schon bekannten Abbau- und Umbauwegen weiter laufen, wobei wahrscheinlich auf manchen, vielleicht auch auf jeder Stufe Stoffwechselzwischenprodukte über eine Konjugation an Gallen - oder Glucuronsäuren ausgeschieden werden und im Kot oder Urin erscheinen. Die erhöhte Ausscheidung einer dieser Produkte, nämlich der Laurylsäure, nach Verabreichung einer genügend hohen Dosis an Dodekan konnten wir nachweisen.

Noch nicht genügend geklärt scheint bisher die Rolle der Darmbakterien bei diesen Stoffwechselvorgängen. Theoretisch wäre denkbar, daß nur sie die Alkane oxidieren können und der Körper dann diese oxidierten Verbindungen aus dem Darmlumen aufnimmt. Die Versuchsanordnung von Tulliez und Borries (42) ließe einen derartigen Einwand durchaus zu. Die Tatsache, daß bei intraperitonealer Verabreichung unverändertes Dodekan neben markiertem CO_2 über die Atemluft ausgeschieden wird, könnte diesen Einwand widerlegen. Danach fände eine Umwandlung der Alkane tatsächlich im Körper statt, womit die Frage nach der Beteiligung der Darmflora, die sowieso nur zu einem ganz kleinen Teil betroffen sein kann, da die Anaerobier nicht zur Oxidation mit Sauerstoff befähigt sind, an Bedeutung verliert.

Über den Verbleib des Dodekan im Körper und seinen Ausscheidungen geben die Zahlen von Tulliez und Borries (42) und unsere eigenen einen Überblick, wobei zu berücksichtigen ist, daß jene Heptadekan oral verabreichten und ihre Bilanz nach sechs Tagen aufstellten, wir dagegen Dodekan parenteral applizierten und vier Tage lang beobachteten.

Im einzelnen finden jene im Kot 1 - 28%, Im Urin 0,05 - 1,1 %, im Körper zurückgeblieben 25 - 37%, d.h. insgesamt 39 - 54%. Den Rest betrachten sie als verstoffwechselt und als CO_2 abgeatmet. Die Ausscheidung über die Ausatmungsluft wurde von ihnen nicht gemessen.

Die große Menge der im Kot ausgeschiedenen Aktivität ist darauf zurückzuführen, daß eine Gruppe mit einer verhältnismäßig großen Heptadekandosis gefüttert wurde, von der ein Teil gar nicht erstresorbiert wurde.Bei der anderen Gruppe mit niedriger Dosis liegt die Zahl bei etwa 1%.
Bei uns finden sich im Kot 1 - 4%, im Urin o,3%, in der Ausatmungsluft 22-35%. Der im Körper nach vier Tagen noch zurückgebliebene Anteil wurde von uns nicht bestimmt.

Diese Zahlen sind nur beschränkt vergleichbar, aber sie bieten doch einen brauchbaren Anhaltspunkt über die Größenordnung der Anteile der verschiedenen Ausscheidungswege.

Die Ausscheidungsmenge über Faeces und Urin sowie die Aufteilung der darin gefundenen Verbindungen steht im wesentlichen in Übereinstimmung mit bisher aus der Literatur bekannten Daten für Heptadekan (42). Eben dort wurde bewiesen, daß oral aufgenommenes Heptadekan zur Heptadekansäure oxidiert und im physiologischen Abbauweg der Fettsäuren verstoffwechselt wird. Durch die hier beschriebenen Versuche wurde der Abbau des Dodekan zum CO_2 und eine erhöhte Laurylsäureausscheidung in bestimmten Kot- und Urinfraktionen nach Dodekangabe nachgewiesen und damit nahegelegt, daß der Abbauweg des Dodekan genauso verläuft.Daraus ergäbe sich, daß die Schadwirkung der höherkettigen aliphatischen Kohlenwasserstoffe wegen der verhältnismäßig schnellen Ausscheidung und Verstoffwechselung und die Speicherung nur in physiologischen Verbindungen, d.h. verschiedenen Lipiden, sehr gering, bzw. nicht vorhanden ist.
Es sei noch einmal betont, daß dies eine Möglichkeit - für die allerdings einiges spricht - des Stoffwechselweges von Dodekan bei Ratten ist. Inwieweit dieser auf den Menschen übertragbar ist, kann durch unsere Versuche nicht geklärt werden. Dieser Einwand gilt aber für sämtliche Toxizitäts- und Stoffwechseluntersuchungen an Tieren.
Ein Problem besteht noch in der bekannten Karzinogenität der Aliphaten mit dieser Kettenlänge von sechs bis sechzehn

C-Atomen (26). Sie ist bisher an mit vorher durch Methylazoxylmethanolacetat behandelten Säugetierzellen nachgewiesen. Zu prüfen bliebe noch, ob durch Ölnebelexposition genug Alkane aufgenommen werden und sie ausreichend lange als unveränderte Verbindungen im Organismus verbleiben, um dieses Phänomen auszulösen.
Mutagenität der Alkane allein wurde bei jenen Experimenten nicht beobachtet.

7. Zusammenfassung

Eine Mineralölnebelexposition kommt an vielen Arbeitsplätzen in der Industrie vor. Die Angaben über gesundheitsschädigende Wirkungen dieser Ölnebel sind bisher nicht eindeutig, zum Teil sogar widersprüchlich. Eine endgültige Aussage darüber ist ohne Kenntnis der Aufnahme, Verstoffwechslung und Ausscheidung jeder einzelnen der in einem solchen Stoffgemisch vorkommenden Substanzen nicht möglich.

Stellvertretend für die Gruppe der aliphatischen Kohlenwasserstoffe wurde hier das Verhalten des Dodekans bei Ratten nach intraperitonealer, bzw. subkutaner Verabreichung untersucht, um Anhaltspunkte dafür zu gewinnen, ob und wie die Durchführung einer Untersuchung mit einer größeren Anzahl von Individuen sinnvoll und erfolgsversprechend sein könnte, um statistisch gültige Daten zu gewinnen.

Das verabreichte Dodekan wird zu einem Teil unverändert über die Lunge und im Kot ausgeschieden (Tab. 1 und 2). Die Ausscheidung über die Lunge folgt in den ersten Tagen einer Exponentialfunktion 1. Ordnung : $A(t) = A_o \cdot e^{-k_{21}t}$ (s. Abb. 2). Die Konstante k_{21} wird hier mit $k_{21} = 0{,}07$ bestimmt, die Halbwertszeit für die exspirative Ausscheidung $T\,1/2 = 9{,}9$ Stunden. Die innerhalb eines bestimmten Zeitintervalls t abgeatmete Dodekanmenge läßt sich durch die Gleichung $A(\Delta t) = A_o \cdot \frac{1}{2}\,(e^{-k_{21}t_1} - e^{-k_{21}t_2})$ errechnen.
Nach Kenntnis der Abatmungskinetik für den Menschen wäre es möglich, von einer in einem bestimmten Zeitintervall nach Expositionsende abgeatmeten Schadstoffmenge auf die vorhergehende gesamte Aufnahme dieses Stoffes zu schliessen. Dies wäre ein verhältnismäßig einfaches Verfahren zur Bestimmung der Gesamtaufnahme von Schadstoffen.
Um von der Messung der Dodekanausscheidung auf die insgesamt aufgenommene Menge der verschiedenen Mineralölbestandteile zu schließen, muß allerdings der genaue Anteil des Dodekan im Mineralöl bekannt sein, der von Fabrikat zu Fabrikat schwankt und vor allem, und diese Voraussetzung

ist heute bei weitem noch nicht erfüllt, die Kinetik aller in dem Stoffgemisch vorhandenen Verbindungen bekannt sein. Bis dahin ist noch eine Vielzahl von Untersuchungen notwendig.

Für die Beurteilung der schädigenden Wirkung einer Substanz ist die Kenntnis deren Verhalten im Organismus notwendig. Für eine Verstoffwechslung der bisher weithin für physiologisch inert gehaltenen aliphatischen Kohlenwasserstoffe haben sich in letzter Zeit in zunehmender Zahl Hinweise zuerst bei Mikroorganismen, jüngst auch bei Ratten ergeben (1, 2, 13, 24, 32, 35, 42, 48).

Der Nachweis von radioaktivem CO_2 in der Ausatmungsluft bei Ratten, die parenteral 14-C-Dodekan erhielten, beweist den vollständigen Abbau eines Teils dieser Substanz. Der Stoffwechselweg zur Fettsäure wird durch den Nachweis einer erhöhten Laurylsäureausscheidung in bestimmten Fraktionen von Faeces und Urin, das bedeutet also einer Oxidation des Alkans,gewiesen (s.Tab. 5 -7). Im einzelnen ist folgender Stoffwechselweg bei Ratten wahrscheinlich : Ein Teil des verabreichten Dodekans wird unverändert in Atemluft und Kot wieder ausgeschieden.Ein weiterer Teil wird in der Leber verestert (z.B. in Gallen- und Glucuronsäuren) und ebenfalls im Kot ausgeschieden (s.Tab. 2 und 3), genauso wie eine geringe Menge schon oxidierter, aber nicht vollständig abgebauter Verbindungen. Im Urin findet sich nur eine ganz geringe Menge von Stoffwechselprodukten des Dodekans, am ehesten als Bikarbonat oder glucuronierten Verbindungen. Der größte Teil schließlich wird, vermutlich über das System der mischfunktionellen Oxidase mit dem induzierbaren Enzym Cytochrom P 45o zur Laurylsäure oxidiert (21, 35), an Coenzym A gebunden und unterliegt dann dem physiologischen Fettsäureabbau der ß-Oxidation zur aktivierten Essigsäure.Dieses Acetyl-CoA wird dann entweder im Zitratzyklus zu CO_2 und H_2O abgebaut oder zur Neusynthese von anderen Lipiden verwendet(42).

Die verhältnismäßig schnelle Ausscheidung, bzw. Umwandlung

des Dodekans in physiologisch vorkommende Verbindungen berechtigen zu der Annahme, daß praktisch keine direkte toxische Schädigung nach Dodekanaufnahme auftritt. Nachdem Tulliez und Borries (42) für Heptadekan ähnliche Ergebnisse fanden, wird man diese wohl für alle aliphatischen unverzweigten Kohlenwasserstoffe mit einer Kettenlänge zwischen zwölf und siebzehn C-Atomen annehmen können.
Unsicher ist allerdings, inwieweit diese Vermutung auch für die Dodekanwirkungen beim Menschen zutrifft.
Nicht geklärt bleibt weiterhin, ab welcher Dosis und Verweildauer im Organismus das Dodekan eine kokarzinogene Wirkung zeigt. Sicher scheint, daß andere Verbindungen in Mineralölnebeln eine höhere Gesundheitsgefährdung haben als das Dodekan.

Literaturverzeichnis

1 Asperger, O. und H. Aurich: Anwendung polarographischer O_2-Messungen auf die Veratmung von n-Alkanen und deren Derivaten durch Acinetobacter calcoaceticus; Z. Allg. Mikrobiologie 17, 419 - 427 (1977)

2 Ayer, H.E.: Sampling Methods for Oil Mist in Industry; Ind. Hyg. Journ. 25, 1515 - 1517 (1964)

3 Bartels, O.: Akute Intoxikationen mit Erdöldestillaten; Deutsches Ärzteblatt 75, 426 - 427 (1978)

4 Barzo, P., J. Gyulai und J. Schnitzler: Lungenveränderungen infolge Aspiration von Mineralölen; Prax. Pneumol. 27, 216 - 225 (1973)

5 Blau, K. and G.F. King (Ed.): Handbook of Derivates for Chromatography; London: Heyden & Son 1977

6 Borbely, F: Erkennung und Behandlung der organischen Lösungsmittelvergiftungen, Bern: Huber 1946

7 Der Bundesminister für Forschung und Technologie (Hrsg.): Programm Energieforschung und Energietechnologie 1977 - 1980, 2. Auflage, Bonn 1978

8 Davis, J.B.: Petroleum Microbiology; Amsterdam: Elsevier 1967

9 Deutsche Forschungsgemeinschaft, Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe: Mitteilung XII, Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen 1977, Bonn: Harald Boldt 1977

10 Deutsche Forschungsgemeinschaft, Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Arbeitsgruppe, Analytische Chemie: Analytische Methoden zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Bd. 2: Analysen aus biologischem Material; Weinheim: Verlag Chemie 1978

11 Drasche, H., L. Finzel, H. Martschei und R. Meyer: Arbeitsmedizinische Erhebungen bei ölnebelexponierten Personen; Zbl. Arbeitsmedizin 10, 305 - 312 (1974)

12 Foster, J.W.: Hydrocarbons as Substrates for Microorganisms; Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology and Serology 28, 241 - 274 (1962)

13 Fuhs, G.W.: Der mikrobielle Abbau von Kohlenwasserstoffen; Arch. Mikrobiol. 39, 374 - 422 (1961)

14 Gottschalk, G: Bacterial Metabolism; New York: Springer 1979

15 Grupinski, L., W. Obländer, K.Neuschwander, W. Staub: Ölkonzentrationsmessungen in der Raumluft von Arbeitsäumen; Arbeitsschutz 1, 12 - 17 (1972)

16 Gutnick, D.L., E. Rosenberg: Oil Tankers and Pollution: A Microbiological Approach; Ann. Rev. Microbiol. 31, 379 - 396 (1977)

17 Haydon, D.A., B.M. Hendry, S.R. Levinson and J. Requena: Anaesthesia by the n-Alkanes; Biochim. et Biophys.Acta 470, 17 - 34 (1977)

18 Horowitz A., D.L. Gutnick and E. Rosenberg: Sequential Growth of Bacteria on Crude Oil; Appl. Microbiol. 30, 10 - 19 (1975)

19 Jäckel, P: Mineralölnebel - Entstehungsursachen, physikalische Eigenschaften, toxikologische Wirkungen, Beseitigungsmöglichkeiten und meßtechnische Erfassung in der metallverarbeitenden Industrie; Fertigungstechnik und Betrieb 24, 460 - 463 (1974)

20 Johnstone, R.T.: Occupational Medicine and Industrial Hygiene; St. Louis: Mosby 1948

21 Kawamoto, S., C. Nokazi, A. Tanaka and S. Fukui: Fatty Acid ß-Oxidation System in Microbodies of n-Alkane - Grown Candida tropicalis; Eur.J.Biochim. 83, 609 - 613 (1978)

22 Kiessling, W.D.: Sicherheitstechnische Einrichtungen zur Beseitigung von Ölnebel und Öldämpfen in der Atem- und Raumluft; Referat 5 in: Fachkonferenz "Gesundheitsgefährdung durch Öle und Ölnebel in der metallverarbeitenden Industrie", Protokollniederschrift, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Unfallforschung, Dortmund 1979

23 Klages, F: Einleitung in die organische Chemie; 3. Auflage, Berlin: Walter de Gruyter 1969

24 Klug, M.J. and A.J. Markovetz: Utilization of Aliphatic Hydrocarbons by Microorganisms; in: Advances in Microbial Physiology, Vol. 5, New York: Academic Press 1971

25 Knecht, U.: Toxikologische Wirkungen der einzelnen Bestandteile von Ölen und Kühlschmierstoffen und deren Metaboliten; Referat 4 in: Fachkonferenz "Gesundheitsgefährdung durch Öle und Ölnebel in der metallverarbeitenden Industrie", Protokollniederschrift, Bundesanstalt für Arbeitsschütz und Unfallforschung, Dortmund 1979

26 Lankas, G. R., C. S. Baxler and R. T. Christian: Effect of Alkane Tumor - Promoting Agents on Chemically Induced Mutagenesis in Cultured V 79 Chinese Hamster Cells; Journ. Toxiol. Env. Health 4, 37 - 41 (1978)

27 Laughlen, G.F.: Pneumonia Following Naso-Pharyngeal Injection of Oil; Am. Journ. Path. 1, 407 - 415 (1925)

28 Lippman M. and D.H. Goldstein: Oil Mist Studies - Encironmental Evaluation and Control; Arch. Env. Health 21, 591 - 599 (1970)

29 Lykke, A.W.J. and B.W. Stewart: Fibrosing Alveolitis (Pulmonary Interstitial Fibrosis) Evoked by Experiential Inhalation of Gasoline Vapours; Experientia 34, 498 (1978)

30 Marg, T: ohne Titel, Referat 1 in: Fachkonferenz "Gesundheitsgefährdung durch Öle und Ölnebel in der metallverarbeitenden Industrie", Protokollniederschrift, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Unfallforschung, Dortmund 1979

31 Mayer, F.: Weltatlas Erdöl und Erdgas; Braunschweig: Georg Westermann 1976

32 McKenna, E.J. and R.E. Kallio: The Biology of Hydrocarbons; Ann. Rev. Microbiol. 19, 183 - 208 (1965)

33 Moeschlin, S.: Klinik und Therapie der Vergiftungen; 6. Auflage, Stuttgart: Thieme 1980

34 Münch, K.: Mögliche Expositionen durch die Verwendung von Ölen und Kühlschmierstoffen; Referat 2 in: Fachkonferenz "Gesundheitsgefährdung durch Öle und Ölnebel in der metallverarbeitenden Industrie", Protokollniederschrift, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Unfallforschung, Dortmund 1979

35 Parekh, V.R., R.W. Traxler and J.M. Sobek: n-Alkane Oxidation Enzymes of a Pseudomonad; Appl. Env. Microbiol. 33, 881 - 884 (1977)

36 Pasternack, B. and L. Ehrlich: Occupational Exposure to an Oil Mist Atmosphere; Arch. Env. Health 25, 286 - 294 (1972)

37 Römmelt H. und K. Dirnagl: Pulmonale Resorption von sechs Kohlenwasserstoffen; Münch. Med. Wschr. 119, 367 - 368 (1977)

38 Rosenberg E. and D.L. Gutnick: The Hydrocarbon-Oxidizing Bacteria; in: The Prokaryotes, Vd I, ed.by M.P. Starr, H.Stolp, H.G. Trüper, A. Balow and H.G. Schlegel, Berlin-Heidelberg - New York: Springer 1981

39 Schlegel, H.G: Allgemeine Mikrobiologie; 5. Auflage Stuttgart: Thieme 1981

40 Schubotz, R.: Gaschromatographische Analyse von Fettsäuren aus biologischem Material; Diagnostik 9, 200 - 202 (1976)

41 Statistisches Landesamt Baden-Württemberg (Hrsg): Statistisches Taschenbuch Baden-Württemberg 1977; Stuttgart: Stat. Landesamt 1977

42 Tulliez, J.E. and G. F. Borries: Metabolism of a n-Paraffin, Heptadecane, in Rats; Lipids 13, 110 - 115 (1977)

43 Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, Bd.4; München - Berlin: Urban und Schwarzenberg 1953

44 Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie, Bd. 6; München - Berlin: Urban und Schwarzenberg 1955

45 Wagner, W.D., P.G. Wright and H.E. Stokinger: Inhalation Toxicology of Oil Mist; Am. Ind. Hyg. Ass. J. 25, 158 - 168 (1964)

46 Weissermel, H.: Mikrobielle Proteinsynthese aus Paraffin-Kohlenwasserstoffen; Prax. Kur. 20, 44 - 46 (1978)

47 Wild, H.: Überblick über den gegenwärtigen Stand der Aerosolmeßtechnik; Staub 36, 143 - 148 (1976)

48 Zo Bell, C.E. and J.F. Prokop: Microbial Oxidation of Mineral Oils in Barataria Bay Botton Deposites; Z.Allg. Mikrobiol. 6, 143 - 162 (1966)

49 Zorn,A.: Zur Frage der Toxizität von Ölaerosol; Diss., Freiburg 1978

50 Zorn, H.: Berufliche und Umweltgefährdung durch polyzyklisch aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH) in Erdöl- und Kohledestillaten bei ihrer technologischen Anwendung in der Industrie und im Straßenbau; Arb.med. - Soz.med. - Präv. med. 26, 78 - 83 (1978)

Mein Dank gilt den Herren
Professoren Dr.H.Zorn und
Dr.H.Weichardt für die Über -
lassung des Themas und die
Betreuung während der Arbeit
sowie Herrn Dr.rer.nat.
R.Eisenmann und Herrn G.
Schatenberg für Beratung und
tatkräftige Unterstützung.

LEBENSLAUF

Am 4. November 1954 wurde ich, Volker Riethmüller, als Sohn des Bankkaufmanns Paul Riethmüller und der Gertrud, geb. Zink, in Leonberg geboren.

Nach Absolvierung der Grundschule in Leonberg-Eltingen trat ich 1965 nach unserer Übersiedlung nach Obermaiselstein im Allgäu in das Gymnasium Oberstorf ein und legte dort im Juni 1974 die Reifeprüfung ab. Im Wintersemester 1974/75 begann ich mit dem Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Nach dem Physikum im August 1976 und der Ersten Ärztlichen Prüfung im August 1977 wechselte ich an die Eberhard-Karls-Universität Tübingen und bestand dort die Ärztliche Prüfung am 16.10.1980.

Seit 1.10.1982 bin ich am Medizinischen Landesuntersuchungsamt in Stuttgart tätig, nachdem ich zuvor meinen Grundwehrdienst als Stabsarzt abgeleistet habe.